



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**ABERRACIONES CROMOSÓMICAS POR
EXPOSICIÓN A CONTAMINANTES
AMBIENTALES Y SU RELACION CON LA
VARIANTE ALÉLICA CYP 1B1 LEU 432 VAL
EN POBLACIÓN MEXICANA NO
FUMADORA.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L Ó G A

P R E S E N T A:

KAROL LIZBETH CARRASCO COLÍN



**DIRECTOR DE TESIS:
DRA. María Eugenia Gonsebatt Bonaparte**

2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Resumen

La Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM) presenta serios problemas de contaminación debido a las características fisiográficas y climáticas de la zona aunadas a las emisiones de contaminantes que diariamente se generan en ella como consecuencia del crecimiento poblacional y actividades urbanas; la inhalación de esta mezcla de contaminantes afecta a la población. Es importante caracterizar la susceptibilidad genética de la población mexicana a padecer daño por exposición a contaminantes ambientales, puesto que no existen reportes de las frecuencias alélicas de los distintos polimorfismos de genes que codifican para enzimas de desintoxicación. Este proyecto consistió en estudiar el impacto de la contaminación ambiental (CA), en habitantes de la ZMVM mediante detección de aberraciones cromosómicas (ACs) y analizar si existe correlación entre este marcador de efecto y el marcador de susceptibilidad CYP1B1 Leu₄₃₂Val, considerando posibles confusores (edad, estilo de vida). El análisis de las ACs, demostró que los individuos expuestos a la CA, en la época de invierno presentaron mayores índices de gaps cromatídicos, gaps cromosómicos y rompimientos cromatídicos, que en la época de verano ($p=0.0125$ *). No se encontró correlación entre el marcador de efecto (ACs) con la variante alélica del CYP1B1. Se concluye que las ACs, son un buen marcador de efecto por exposición a genotóxicos ambientales en zonas urbanas y que el polimorfismo CYP1B1 Leu₄₃₂Val no tiene impacto como biomarcador de susceptibilidad genética en estos niveles de exposición.

Contenido	Pag.
Introducción	7
I. Ciudad de México y la contaminación ambiental.	7
II. Rasgos geoclimáticos de la Zona Metropolitana del Valle de México.	10
III. Población de la Zona Metropolitana del Valle de México.	15
IV. Emisiones con efecto tóxico.	20
V. Fuentes puntuales de emisión de contaminantes.	31
VI. Fuentes móviles de emisiones de contaminantes.	32
VII. Xenobióticos.	34
VIII. DNA y cromosomas.	35
IX. Mutación.	38
X. Reparación del DNA.	42
XI. Marcadores biológicos.	43
XII. Aberraciones cromosómicas como indicador biológico de genotoxicidad.	44
XII. Variantes alélicas CYP 1B1 LeU ₄₃₂ Val.	50
XIV. Cáncer.	53
Justificación	55
Hipótesis	56
Objetivo general	57
Objetivo particulares	57
Material y métodos	58
Resultados	64
Discusión	76
Conclusiones	80
Literatura citada	81
Anexo	85

“La realidad sería una cosa muy limitada si no ofreciera a la humanidad de cada época algo que investigar y la necesidad de manos para hacerlo, ¡Aquí están las mías!”...

Séneca, Cuestiones naturales

Libro 7, Siglo I

Este trabajo fue realizado en el Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Molecular, en el Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección de la Dra. María Eugenia Gonsebatt Bonaparte y la asesoría de la M en C. Wendy Argelia García Suastegui.

Dedicatoria

A Dios, por permitirme llegar hasta aquí y con fuerzas para seguir adelante, con mucho entusiasmo.

A mi querida Universidad Nacional Autónoma de México y al Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM, por el apoyo para la realización del presente trabajo.

A mi mamá Maru, porque tú amor, apoyo, entereza, optimismo y comprensión, siempre me dieron la pauta y las fuerzas para seguir adelante, no se que habría sido, sin ti; Todo lo que soy ahora te lo debo a ti. Te amo, mamá.

Y va también para mi Ferchuliz, que ha sido un apoyo incondicional en esta tesis y en toda mi carrera, espero haber sido un buen ejemplo, hermana.

A Martín, gracias por estar ahí; porque con tu amor y apoyo también me dieron las fuerzas para seguir adelante.

A Sergio, con mucho cariño y por todos los momentos que hemos compartidos juntos desde la carrera y en la actualidad, por el amor, la paciencia y por tus enseñanzas.

A toda mi familia Colín-Guerrero, por tener esa chispa y carisma, que me motiva siempre a ser una mejor persona; Y a mi familia Estrada-Santoyo, por su gran apoyo siempre.

A los biólogos, aun no biólogos y no biólogos que han hecho mi vida mágica Alfredo, Erika, Diana, Mary, Rubén, Moy, César, Asdrúbal, Miriam Ivonne, Tere G., Eduardo, por las desveladas de "estudio", los viajes de carrera y su ayuda siempre. Gracias por que con su cariño, me han dejado compartir con ustedes algunos o muchos de los momentos más inolvidables e importantes de mi vida.

A mis compañeros del laboratorio, Wen, Danny, Luisrael, Nidia, Celeste, Rebeca, Miriam, Karla, Lucrecia, Alex, César, Alicia, Jorge y Camilo. Por compartir momentos muy gratos, me llevo de cada uno de ustedes más que una experiencia de laboratorio.

Agradecimientos

A la Dra María Eugenia Gonsebatt Bonaparte por abrirme las puertas hacia la investigación y mostrarme que vale la pena hacerlo, para aportar algo a la Ciencia.

A mi amiga y próxima Doctora Wendy Argelia Suastegui por su asesoría, ayuda incondicional y por sus sugerencias para enriquecer esta tesis. Gracias por tu guía para concluir esta carrera tan exquisita pero sobretodo gracias por estar en los momentos más difíciles, te recuerdo que eres una persona tan valiosa y especial.

A los miembros del comité tutorial y revisores de tesis. Dra. Paty Ramos Morales, Dra. Julieta Rubio, Dr. Roberto Guevara y Dr. Luis Felipe Jiménez. Muchas gracias por su comprensión y consejos, créame que en poco tiempo he aprendido mucho de ustedes y también gracias por brindarme un poco de su valioso tiempo para mejorar la tesis.

Muchas gracias al Dr. Pavel Petrosyan, por su disposición siempre en aconsejarme y ayudarme en mis experimentos, fue muy grato compartir con usted mi estancia en el laboratorio, gracias por estar ahí cuando más se le necesita.

Introducción

I. Ciudad de México y la contaminación ambiental.

El crecimiento poblacional es una de las causas fundamentales del incremento de problemas ambientales. La mayor parte de esta expansión tiene lugar en las áreas urbanas de países en vías de desarrollo, agravando atrasos en los desarrollos de vivienda e infraestructura, tales como, sistemas de transporte cada vez más saturados, insuficiente suministro de agua, deterioro en el saneamiento y la contaminación ambiental (PNUMA, 2000; Molina, 2001).

La contaminación atmosférica de la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM), está influenciada por una serie de características fisiográficas y climáticas de la zona, dependiente de emisiones contaminantes que se generan en ella, como consecuencia de actividades urbanas en la ZMVM desde los años cincuenta (Figura 1.1).



Fig 1.1. Emisión de Contaminantes en el Valle de México. Fuente: Secretaría de Medio Ambiente, Gobierno del Distrito Federal (SMAGDF), 2008.

La contaminación del aire puede afectar adversamente la salud humana por inhalación directa y por otras formas de exposición como la contaminación por ingestión de agua o alimentos contaminados y por transferencia a través

de la piel. Los tóxicos del aire también pueden incluir carcinógenos o mutágenos, como los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HAP) (Molina, 2005).

La Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM), forma parte de la cuenca endorreica, es una de las megaciudades más grandes del mundo, cubre poco más de 3, 500 Km² de área e incluye las 16 delegaciones del Distrito Federal (1, 486 Km²) y 58 municipios del Estado de México (SMAGDF, 2008).

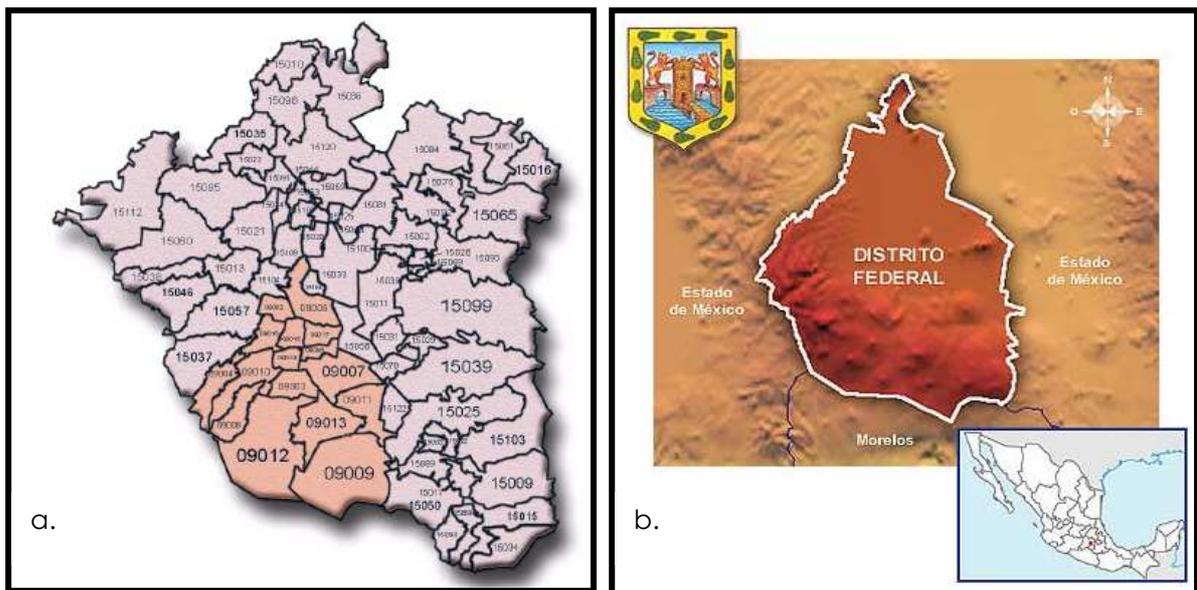


Fig. 1.2 a) Zona Metropolitana del Valle de México, 2006 (Fuente: INEGI, 2007; SMAGDF, 2008); b) Ubicación de la Entidad Federativa en el país (Fuente: <http://www.cuentame.inegi.org.mx>).

Está rodeada por el Eje Neo-Volcánico Transversal, la Sierra Madre Oriental y la Sierra Madre Occidental, presenta una altitud elevada de 2, 240 msnm (metros sobre el nivel del mar). Debido a la altitud, el contenido de oxígeno del aire de la ZMVM es aproximadamente 23% menor que al nivel del mar, lo que contribuye a que los procesos de combustión sean menos eficientes y emitan una mayor cantidad de contaminantes. La cadena montañosa que la rodea impide una adecuada dispersión de contaminantes, propiciando su estancamiento y acumulación (Molina, 2001).

La posición latitudinal ocasiona que reciba una radiación solar intensa que acelera la formación fotoquímica de contaminantes atmosféricos como el

ozono y las partículas secundarias. Asociado a esto, su ubicación en el centro del país (Fig. 1*b*), permite que a lo largo del año la ZMVM resulte afectada por los sistemas anticiclónicos, los cuales mantienen el cielo despejado y aumentan la capacidad fotoquímica de la atmósfera; estos sistemas también inducen que la velocidad de los vientos disminuya cerca de la superficie del suelo, situación que inhibe el movimiento vertical y horizontal del aire, dificultando la dispersión de los contaminantes (Figura 1.2.). (SMAGDF, 2008).

II. Rasgos geoclimáticos de la Zona Metropolitana del Valle de México.

Las características climáticas y geográficas del Valle Metropolitano, son consideradas como parte de los principales factores que condicionan la acumulación o dispersión de los contaminantes generados fundamentalmente por actividades antropogénicas. De la misma manera, el microclima (el estado del tiempo en pequeña escala) y el clima, tienen considerables influencias que afectan el aire y el comportamiento de los contaminantes. La ZMVM, cuenta con un clima templado con lluvias en verano. En los últimos años, las condiciones meteorológicas han cambiado, permitiendo dividirlas en tres temporales: Seca-Caliente (Marzo a Mayo), Lluvias (Agosto a Octubre) y Seca-Fría (Noviembre a Febrero) (SMAGDF, 2008).

La dirección del viento en la ZMVM, representa un factor muy importante desde el punto de vista de la contaminación atmosférica, ya que a partir de ésta se identifican los sistemas meteorológicos que afectan a determinado lugar. Así mismo, la intensidad es una de las variables que determina si los contaminantes en capas cercanas a la superficie se acumulan o se dispersan. Por consiguiente, la dispersión vertical de los gases contaminantes en la atmósfera depende en gran manera de la estabilidad y turbulencia de la zona, así como del calor, la fricción debida a los vientos y la superficie del suelo. La entrada principal del viento a la ZMVM es el Norte, ahí el terreno es más plano. Dependiendo de la época del año, la influencia de sistemas meteorológicos hace que exista una segunda entrada, por la región Noreste o que el flujo del viento vaya de Sur a Norte, cuando el viento en capas medias de la troposfera es suficientemente intenso como para que, a pesar de la barrera montañosa se imponga en esa dirección (INEGI, 2007; SMAGDF, 2008). Los rasgos orográficos de la ZMVM, forman remolinos, líneas de confluencia y zonas de convergencia del viento, mismo que tiende a incrementar la acumulación de los contaminantes (Figura. 2.1) (SMAGDF, 2008).

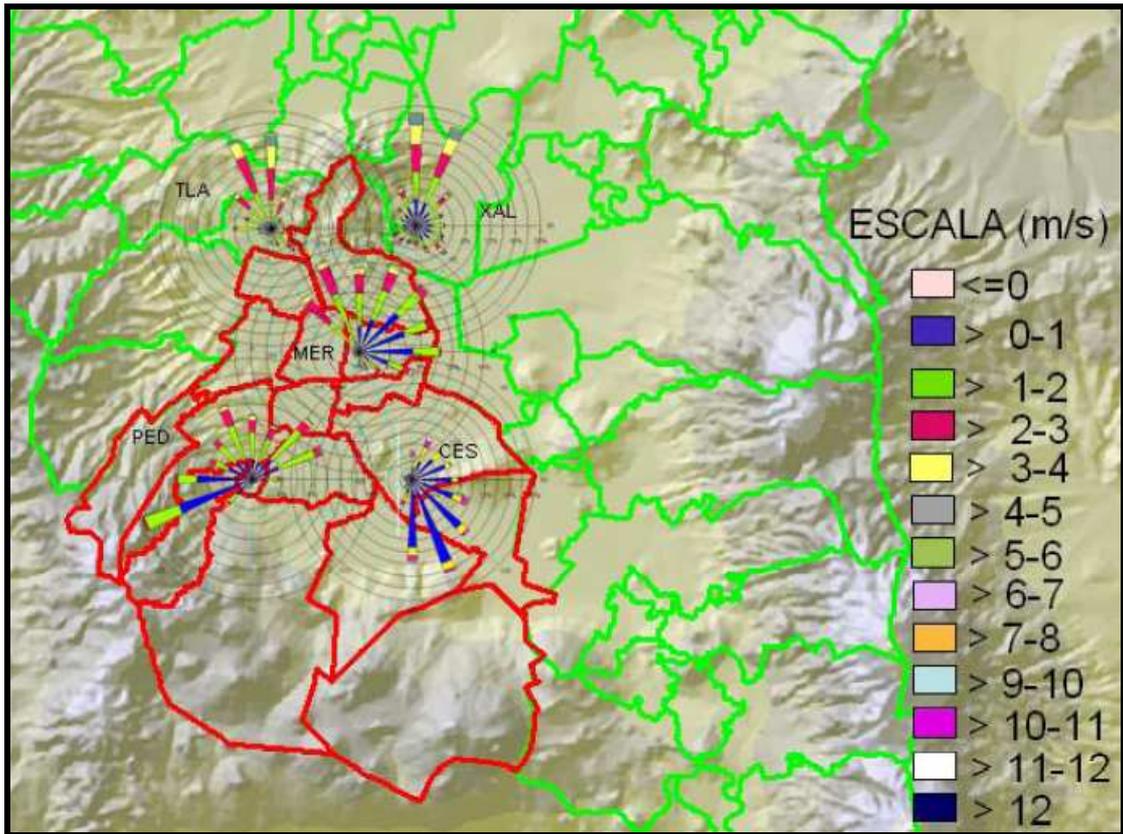
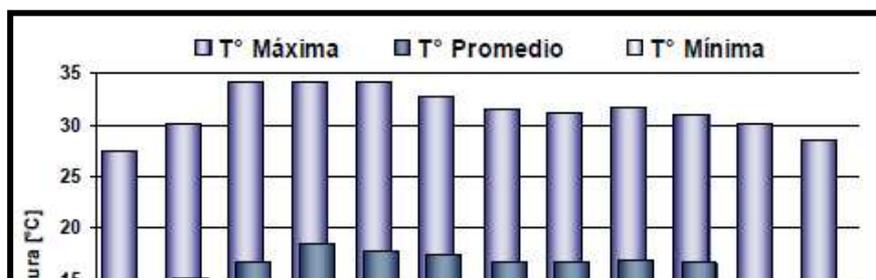


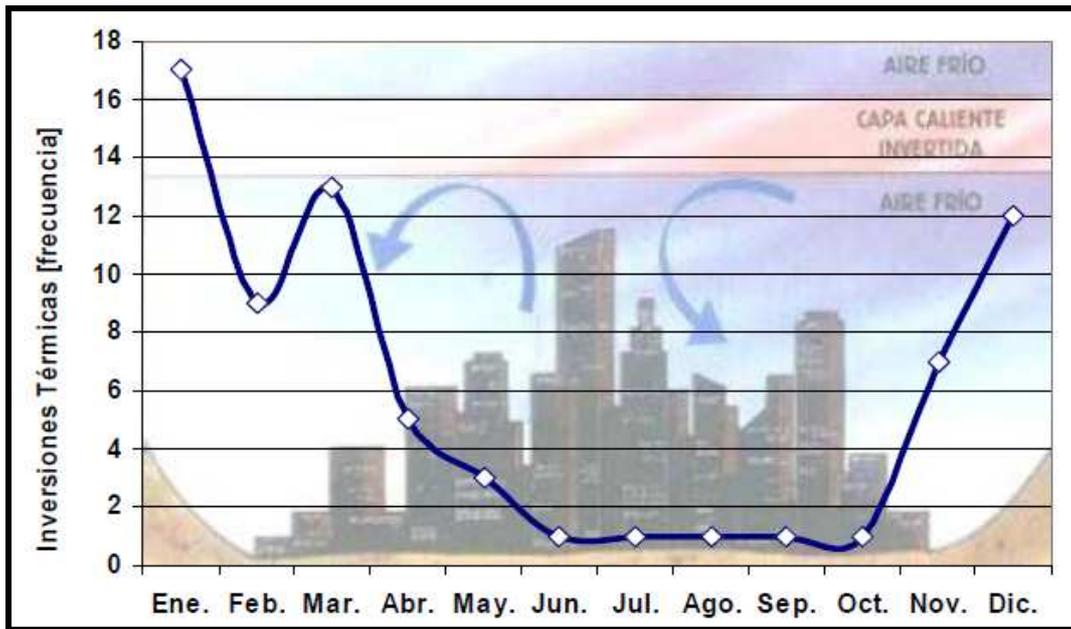
Fig. 2.1. Se muestran las rosas de viento con datos promedio de 5 estaciones de la Red Meteorológica del 2006. Al centro de la ZMVM, (Tlanepantla-TLA, Xalostoc-XAL, Merced-MER). Se observa dirección del viento variable, sin embargo, la componente principal es del Norte. Así mismo, las velocidades de viento de esta zona, llegan a alcanzar los 6 m/s principalmente. En las estaciones del Sur, Cerro de la Estrella (CES), los vientos dominantes provienen del sureste y del Pedregal (PED), la dirección predominante es del suroeste, la velocidad de las dos estaciones se mantuvo en un rango de 1-4 m/s. La dispersión vertical del viento prevalece durante el día, en la dirección norte por la mañana y de baja velocidad. Se incrementa a medio día y presenta los máximos por la tarde (Fuente: SMAGDF, 2008).

En la ZMVM, la temperatura máxima y mínima promedio mensual, presentó un patrón estacional como reflejo de la época del año. Debido a esto, los valores más bajos se registraron en la época de Seca-Fría y los altos en la época de Seca-Caliente (Gráfica 2.1).



Grafica 2.1 Muestra la variación mensual de la temperatura máxima, promedio y mínima mensual, durante el año 2006. Se observa un patrón estacional a lo largo del año, en particular con las temperaturas mínimas en la época fría y las máximas en la seca (Fuente: SMAGDF, 2008).

Las inversiones térmicas (IT), se presentan con el aumento de la temperatura en ciertas capas de la atmósfera que frenan los movimientos del aire debido a que el aire denso y frío de las capas bajas no puede elevarse, lo que equivale a estabilidad atmosférica de temporal y por tanto favorece el estancamiento de emisiones contaminantes. En la ZMVM, se presentan sistemas de alta presión que ocasionan cielo despejado por la noche y la fuga del calor del suelo. Debido a esta fuga de calor del suelo, las capas inferiores registran temperaturas más bajas y estancamiento de aire. En 2006, las IT, se presentaron con mayor frecuencia en el mes de enero. Su origen es el resultado de la posición geográfica y morfológica de la ZMVM, asociado a los sistemas de alta presión, cuando se ubican (esto es si te refieres a los sistemas de alta presión), hacia el Norte del territorio en la época de invierno, ya que desplazan aire frío hacia el centro del país (Gráfica 2.2). (SMGDF, 2008).



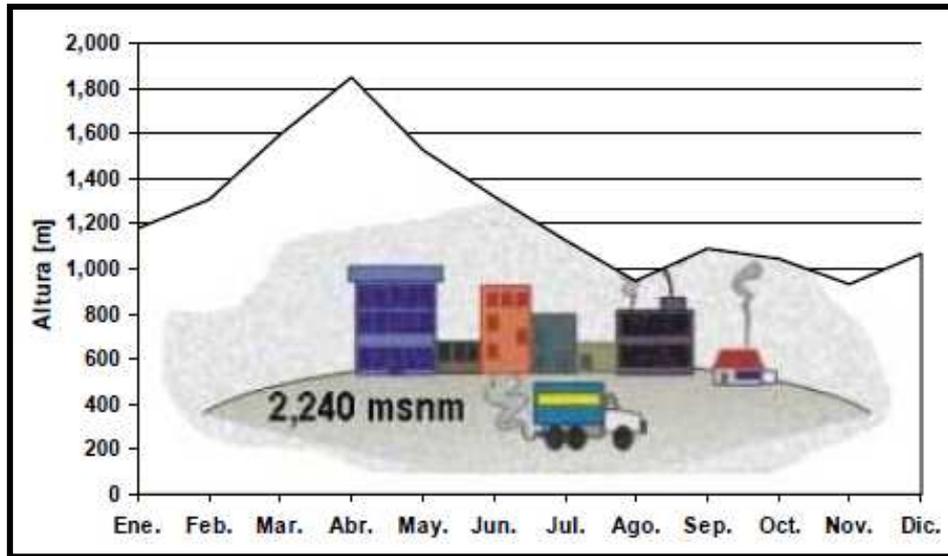
Gráfica 2.2. Frecuencia de Inversiones térmicas en el año 2006 (Fuente: SMAGDF, 2008).



Fig.2.3 Circulación atmosférica natural comparada con una inversión térmica. (Fuente: SMAGDF, 2006)

Se le da el nombre de *capa de mezclado* a la región de la atmósfera en la que se dispersan los contaminantes; su altura varía constantemente dependiendo de las condiciones de calentamiento del aire y de la velocidad del viento, por lo que está en función de la estabilidad de la atmósfera. Como

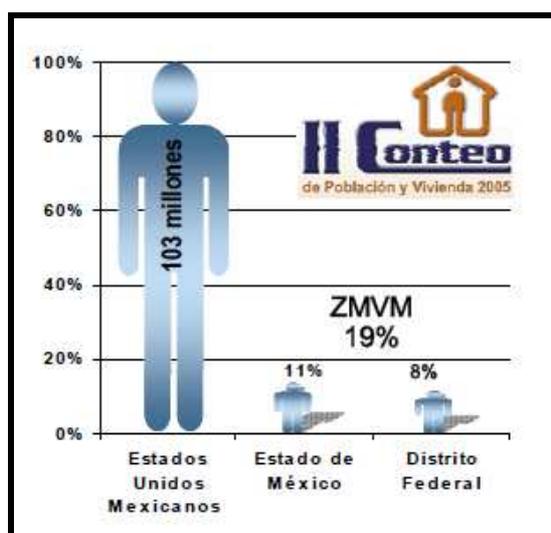
muchas de las variables meteorológicas, la capa de mezclado presenta un cambio durante el día y a lo largo del año. Es un parámetro ideal del volumen del aire en el que se está llevando a cabo la mezcla de contaminantes por causa de la turbulencia atmosférica en las capas bajas (Gráfica 2.3). (SMAGDF, 2008).



Gráfica 2.3. Muestra la altura promedio mensual de la capa de mezclado del año 2006. Se presenta desde marzo y hasta finales de mayo cuando alcanza mayores alturas; para abril, está en su máximo; agosto muestra las más bajas y la mínima se presenta en noviembre (Fuente: SMAGDF, 2008).

III. Población de la Zona Metropolitana del Valle de México.

El patrón de distribución territorial en las dos últimas décadas continúa siendo polarizado, es decir, que se mantiene una alta concentración de población en un número reducido de ciudades y presenta una gran dispersión de la población en miles de localidades pequeñas (Gráfica 3.1.). (CONAPO, 2001; SMAGDF, 2008).



Gráfica 3.1. Población de la ZMVM, por entidad en el CONTEO 2005. Muestra en total en México 103 Millones de habitantes; sólo el 11% corresponde al Edo. de México y el 8% al Distrito Federal (Fuente: SMAGDF, 2008).

El Estado de México es la entidad federativa más poblada, seguida del Distrito Federal. Así mismo, la alta densidad de población y la concentración de actividades productivas implican la presencia de factores de presión ambiental y es un ecosistema crucial para la sustentabilidad. El segundo Censo de Población y Vivienda 2005, arrojó datos en los que la ZMVM, contaba con 20 millones de habitantes, lo que representó en 19% del total nacional, el 44% vive en las 16 delegaciones del Distrito Federal (D.F.) y el 56% en los 59 municipios de Estado de México. En resumen, se argumentó que más de la mitad de la población de la ZMVM, vive aglutinada en 5 delegaciones y 5 municipios del Edo. de México (SMAGDF, 2008).

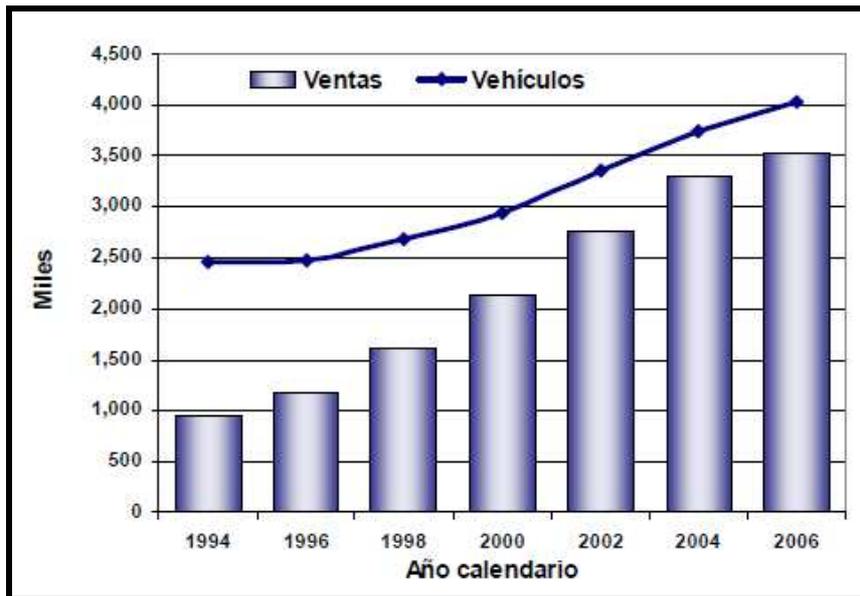
Industria

Existen alrededor de 328 mil industrias manufactureras a nivel nacional, según el censo económico 2004 (INEGI, 2004; SMAGDF, 2008). El 16%, se encuentra ubicado en la ZMVM. De las 16 delegaciones, en 13 de ellas predomina la industria de productos alimenticios, bebidas y tabaco (Tabla 3.1.) Los establecimientos manufactureros ubicados en D.F. se distribuyen de la siguiente manera; el 92% corresponde a la industria micro, el 5% a la pequeña, el 2.6% a la mediana y sólo 0.4% a la grande. Para el Estado de México, la actividad industrial se concentra en los municipios de Tlanepantla, Naucalpan y Ecatepec; son los subsectores de la industria alimenticia, bebidas y tabaco, seguidos de los productos metálicos, maquinaria y equipo. Además, en este estado es donde se encuentran ubicadas las plantas generadoras de energía eléctrica.

Tabla 3.1. Principales delegaciones, que cuentan con industrias.

DELEGACIÓN	INDUSTRIA
<i>Iztapalapa</i>	Manufacturera, producción de alimentos, bebidas y tabaco.
<i>Cuauhtémoc</i>	Manufacturera y producción papel, imprenta y editoriales.
<i>Gustavo A. Madero</i>	Manufacturera, Alimenticia, bebidas y tabaco.
<i>Iztacalco</i>	Manufacturera
<i>Azcapotzalco</i>	Productos metálicos, maquinaria y equipo.
<i>Benito Juárez</i>	Producción papel, imprenta y editoriales.
<i>Venustiano Carranza</i>	Alimenticia, bebidas y tabaco.

Transporte



Gráfica 3.2. Crecimiento de la flota vehicular en circulación y ventas acumuladas de autos (SMACDF, 2008).

El crecimiento poblacional en los últimos años y la falta de un transporte público metropolitano masivo y eficiente, han ocasionado que continúe aumentando la flota vehicular de uso particular, como se puede apreciar en la Gráfica 3.2. Para el año 2006, tan sólo representó el 80% de las unidades destinadas al transporte de personas y sólo captan cerca del 20% de los viajes por persona que se realizan en la ZMVM; en contraste con las combis y microbuses que representan menos 2% y en ellos se realizan cerca del 60% de los viajes por persona por día.

Emisión de contaminantes

Los estudios para conocer la información de la cantidad de los contaminantes son importantes para poder visualizar los contaminantes liberados diariamente a cada hora y así mismo la localización puntual de las fuentes o zonas donde se generan las emisiones. Las emisiones de los contaminantes son más altas en sábados que en un día hábil (lunes a viernes) o en domingo, sólo para el caso de las emisiones de partículas menores a 10 micras y el bióxido de azufre las emisiones de un día hábil y las del sábado son iguales, pero mayores a las del domingo (Tabla 3.3.).

Tabla 3.3. Inventario de emisiones por día de la semana de la ZMVM, en el año 2006

(Fuente: SMAGDF, 2008).

Contaminante		Emisiones [ton/semana]	Emisiones [ton/día]		
			Día hábil	Sábado	Domingo
Partículas menores a 10 micras	PM ₁₀	424	61	61	59
Partículas menores a 2.5 micras	PM _{2.5}	113	16	17	16
Bióxido de azufre	SO ₂	133	19	19	18
Monóxido de carbono	CO	38,248	5,435	5,806	5,268
Óxidos de nitrógeno	NOx	3,743	534	560	513
Compuestos orgánicos volátiles	COV	10,884	1,561	1,574	1,506

Nota: No se incluyen las emisiones de los incendios forestales y estructurales, así como las emisiones de partículas de la erosión eólica del suelo.

Debido al control de distribución temporal horaria, podemos conocer el comportamiento de los contaminantes a través del día; por medio de esto se sabe que los contaminantes no se emiten homogéneamente durante todas las horas del día.

Según reportes de la Secretaría de Medio Ambiente del Gobierno del Distrito Federal, las tendencias de las emisiones horarias de los contaminantes son similares entre si, debido a la influencia de automóviles sobre ellos, se incrementan desde las 6:00 am. los máximos se presentan alrededor de las 11:00 horas, excepto en el caso de los compuestos orgánicos volátiles (COV), donde las principales contribuciones están dadas por las fuentes del área y su emisión máxima se presenta entre las 12:00 y las 13:00 horas. Comienzan a disminuir a partir de las 22:00 horas, cuando gran parte de la población se encuentra en sus hogares (SMAGDF, 2008).

Tabla 3.4. Inventario de emisiones diarias por temporada climática de la ZMVM en el

2006 (Fuente: SMAGDF, 2008).

Temporada	Emisiones [ton/día]					
	PM ₁₀	PM _{2.5}	SO ₂	CO	NOx	COV
Seca fría	70.0	17.6	18.6	5,545.0	535.6	1,546.3
Seca caliente	61.3	17.6	19.2	5,409.3	531.8	1,555.9
Lluvias	61.2	16.7	19.0	5,410.1	532.6	1,551.3

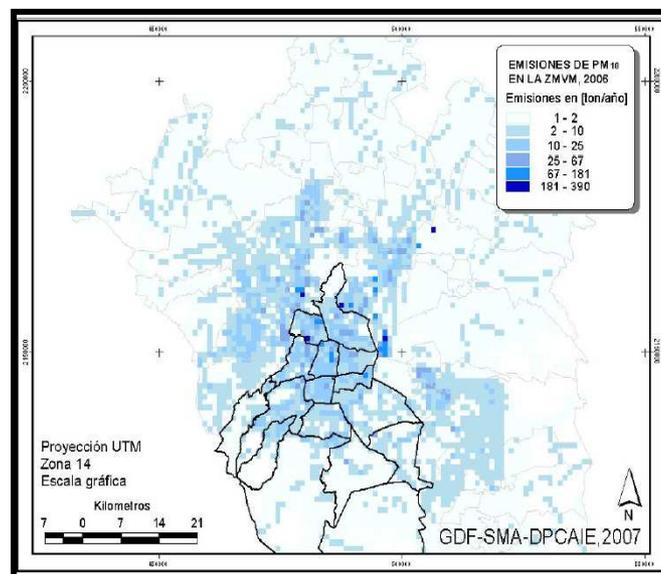
En la tabla 3.4. se muestra un promedio diario de las emisiones por cada temporada climática, en ella se observa que las emisiones presentan un comportamiento diferente dependiendo del contaminante. Tomando los valores más bajos y los más altos, se tienen las emisiones de partículas PM_{10} y $PM_{2.5}$ que difieren en cerca del 14% y 5% respectivamente, los contaminantes entre el 1% y el 3%. En la temporada seca fría (noviembre-febrero), se emiten las mayores emisiones promedio diarias de partículas, CO y NOx; en el caso del SO_2 y los COV, la mayor emisión se presenta en temporada seca caliente (marzo a mayo) (SMAGDF, 2008).

Los contaminantes que ocasionan efectos adversos y para los que se ha establecido un límite de concentración para proteger la salud, se les llama contaminantes criterio, ya que se encuentran asociados con la mortalidad prematura, en el caso de CO, es conocida su característica intoxicante y su influencia en la disminución de la actividad cardiovascular; Específicamente, los COV y los NOx, son de importancia por ser precursores de ozono y porque entre ellos se encuentran compuestos carcinogénicos. En lo que refiere a las partículas, es conveniente mencionar que se tiene evidencia de las propiedades carcinogénicas de las partículas generadas por las emisiones de los vehículos a diesel. Las emisiones de contaminantes criterio son PM_{10} , $PM_{2.5}$, SO_2 , CO, COV, NOx, COT y NH_3 (SMAGDF, 2008).

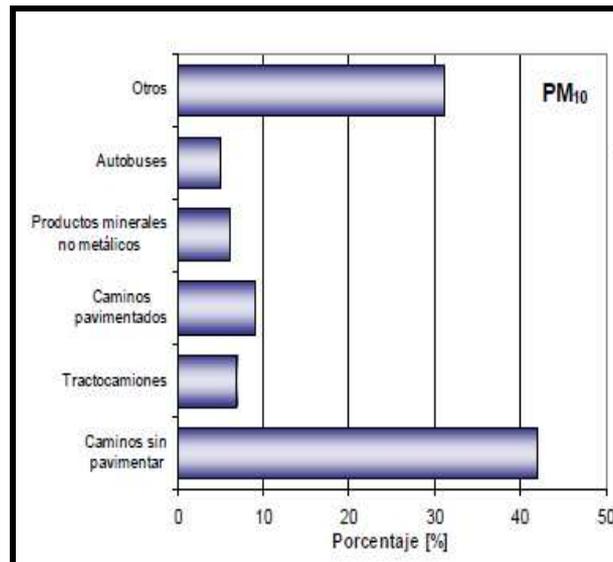
IV Emisiones con efecto tóxico.

PM₁₀ Partículas menores a 10 micrómetros.

Las delegaciones del centro y norte del D.F. producen emisiones de PM₁₀ que pueden llegar hasta 80 toneladas al año, las cuales son generadas por la intensa actividad vehicular y, en algunos casos, se conjunta con la actividad industrial. Las emisiones de las delegaciones del sur del D.F. y municipios conurbanos del Edo. de México, son generadas principalmente por las vialidades sin pavimentar, las cuales son abundantes en el área urbana (SMAGDF, 2008). Mapa 3.1



Mapa 4.1. Distribución espacial de PM₁₀ (Izquierda).



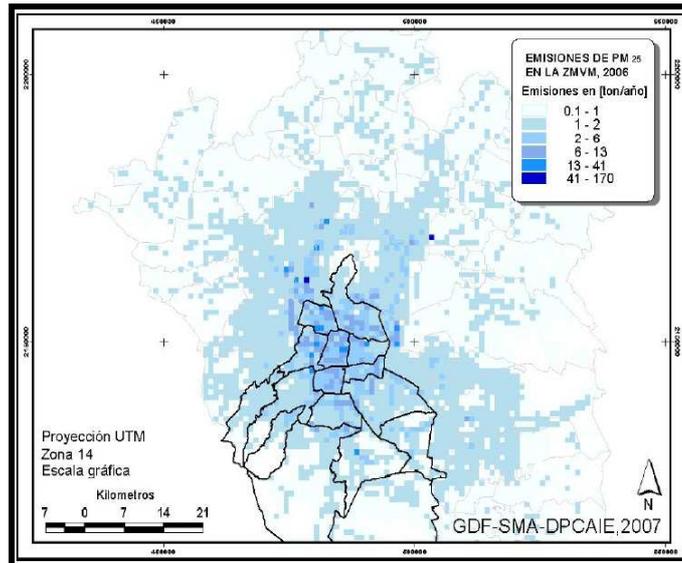
Gráfica 4.2. Principales emisores de PM₁₀
(Fuente: SMAGDF, 2008).

En 1999 Y 2000, en estudios atmosféricos de la ZMVM, se encontró que del 37% al 50% de las PM₁₀ fueron de ese tipo (incluyendo actividades pavimentadas, no pavimentadas y erosión eólica) Gráfica 4.2 (SMAGDF, 2008).

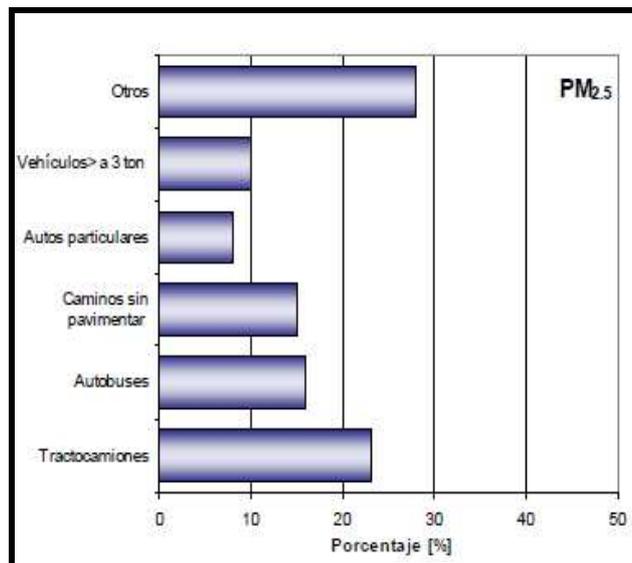
PM_{2.5} Partículas menores a 2.5 micrómetros.

Las emisiones de PM_{2.5}, están constituidas por material sólido o líquido con un diámetro menor de 2.5 milésimas de milímetro su fuente principal es la puntual y móvil. Las zonas de alta emisión son los municipios cercanos al norte del D.F. y corresponden a las fuentes puntuales, presentándose las emisiones más altas en Acolman y Tlanepantla, debido a la generación de energía eléctrica y a la industria de hierro, respectivamente Mapa 4.3 (SMAGDF, 2008)

En lo que se refiere a vehículos que usan diesel como combustible, como tractocamiones y autobuses, tenemos que generan el 62% total de las PM_{2.5} de fuentes móviles Gráfica 4.4(SMAGDF, 2008).



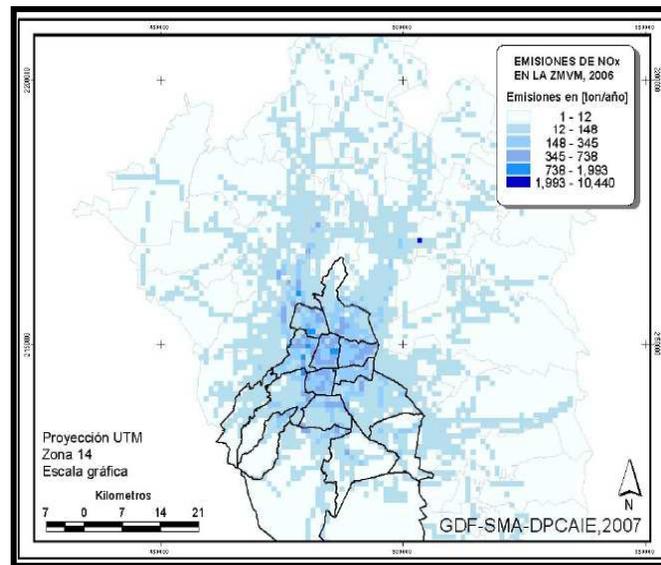
Mapa 4.3. Distribución espacial de PM_{2.5}
(Fuente: SMAGDF, 2008).



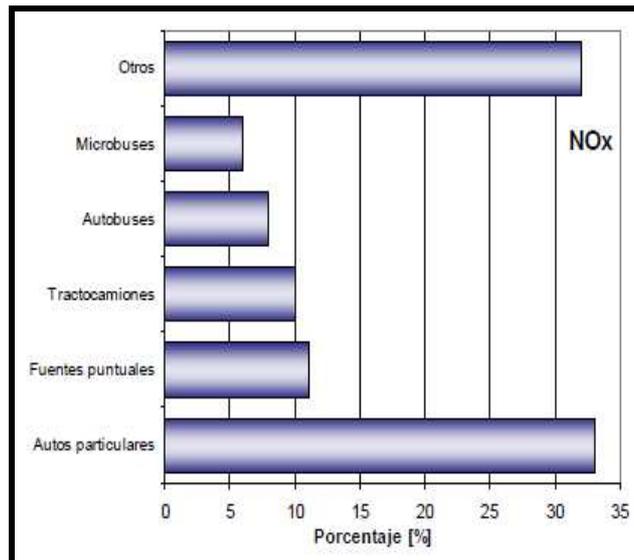
Gráfica 4.4. Principales emisores PM_{2.5}
(Fuente: SMAGDF, 2008).

NO_x, Óxidos de Nitrógeno.

Los NOx (óxidos de nitrógeno) son producto de la combustión de las fuentes móviles, por tanto la distribución espacial de los NOx varía de acuerdo a la actividad del parque vehicular de la ZMVM, concentrándose en la zona urbana, donde el tránsito es intenso y sigue un patrón de distribución conforme a la red vial de la ciudad. Se estimaron más de 194 mil toneladas anuales y cabe mencionar que el 82% de NOx fue generado por las fuentes móviles
Mapa 4.5 y Gráfica 4.6 (SMAGDF, 2008).



Mapa 4.5. Distribución espacial del NOx
(Fuente: SMAGDF, 2008).

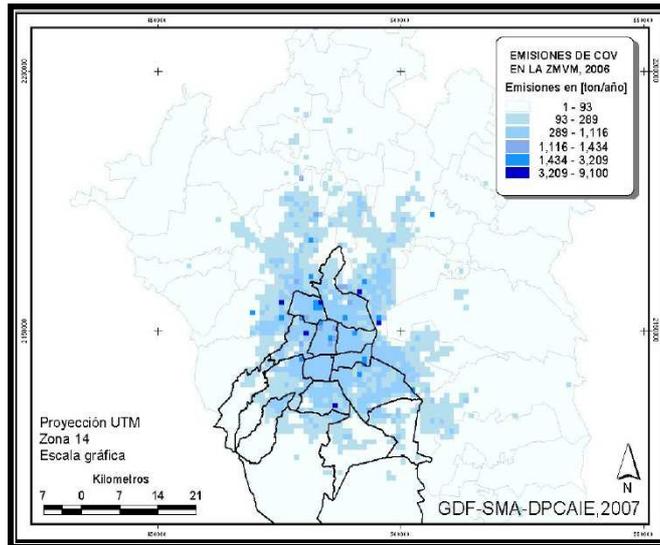


Gráfica 4.6. Principales emisores de NOx
(Fuente: SMAGDF, 2008).

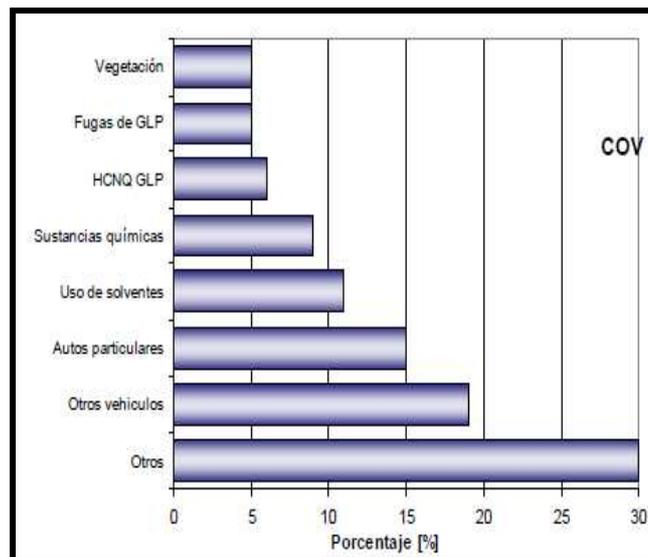
COV, Compuestos Orgánicos Volátiles

Los Compuestos Orgánicos Volátiles (COV), junto con los NOx tienden a la formación del ozono troposférico. En la ZMVM, el patrón de distribución de estos contaminantes es atribuido principalmente a la actividad vehicular y a la actividad de disolventes y fugas de gas LP. La parte central de ZMVM se caracteriza por tener una intensa circulación vial y alta densidad de población, emitiéndose grandes cantidades de este contaminante, sin embargo existen pequeñas zonas aisladas en donde la actividad industrial es la responsable de dicha emisión (SMAGDF, 2008).

En las delegaciones Benito Juárez e Iztapalapa las altas emisiones de COV representan más de 1,300 toneladas anuales y son ocasionadas por la fabricación de plásticos. En Azcapotzalco y Coyoacán se tiene a la industria farmacéutica y en Miguel Hidalgo, la de celulosa y papel. En el Edo. de México encontramos que en los municipios Atizapán de Zaragoza y Naucalpan se tienen emisiones de COV generadas por la producción de plásticos y en el caso de Tlanepantla, se deben a la industria química, de conservas de alimentos e impresión Mapa 4.7 y gráfica 4.8 (SMAGDF, 2008).



Mapa 4.7 Distribución espacial de COV
(Fuente: SMAGDF, 2008).



Gráfica 4.8 Principales emisores de COV
(Fuente: SMAGDF, 2008).

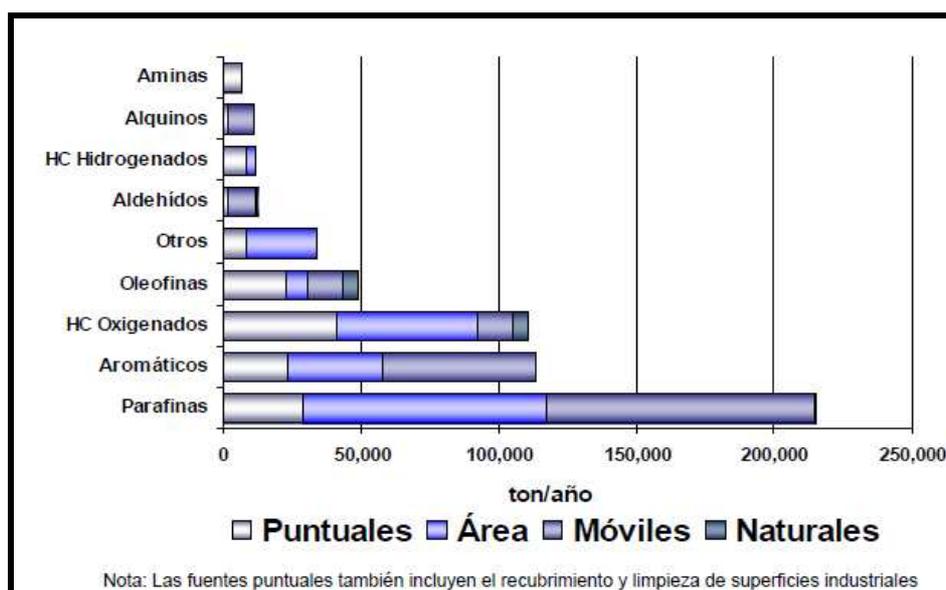
Los COV generados naturalmente no son significativos y representan sólo el 5% del total de las emisiones con 27, 481 toneladas anuales. Las fuentes móviles son las principales emisoras, le siguen en importancia los disolventes y la industria de sustancias químicas (SMAGDF, 2008).

Los COV generadas en la ZMVM, nos indica que los compuestos abundantes, al igual que en monitoreo, incluyen las parafinas con un 38%, aromáticos 20%, hidrocarburos oxigenados 20% y oleofinas 9% Tabla 4.9

Tabla 4.9 Emisores de COV por familia. (Fuente: SMAGDF, 2008).

COV por familia	Emisión	
	[ton/año]	[%]
Parafinas	215,141	38
Aromáticos	113,816	20
Hidrocarburos oxigenados	110,753	20
Oleofinas	48,977	9
Aldehídos	12,608	2
Hidrocarburos alogenados	11,705	2
Alquinos	11,423	2
Aminas	7,150	1
Otros	34,488	6
Total	566,061	100

La siguiente gráfica 4.10 muestra las emisiones de las familias más abundantes de COV, en ella se muestra que las emisiones de parafinas y aromáticos son las más abundantes (generadas en mayor proporción por las fuentes móviles), le siguen las emisiones de hidrocarburos oxigenados (derivados de las fuentes de área y puntuales) y las emisiones de las oleofinas (generado de las fuentes puntuales).



Gráfica 4.10 Emisores de COV especificadas por familias y tipo de fuente, ZMVM-2006 (Fuente: SMAGDF, 2008).

Gasolina, plomo y benceno

La gasolina en el aire en áreas de tráfico denso es una fuente de alto contenido de plomo en el ambiente. El plomo tiene una vida larga y se acumula en el cuerpo humano por mucho tiempo, desde la vida prenatal. Tiene un efecto que puede persistir en los individuos expuestos. La gasolina sin plomo se presenta como benceno. Tanto el benceno como el plomo tienen efectos genotóxicos (Perera et. al. 1992; Kamboj, 2006).

HAP. Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP), pueden contener hasta decenas de átomos de carbono enlazadas formando anillos. De tal manera, que en este contexto, cualquier hidrocarburo que conste de una molécula compuesta de anillos de carbono se denomina hidrocarburo cíclico y los que incluyen uno o varios ciclos no saturados, se denominan hidrocarburos aromáticos (Dickinson, 1992; Pérez, 2006).

Los productos derivados del petróleo y el carbón forman, como principales productos, el dióxido de carbono y el agua y como subproductos de la combustión incompleta se forman los HAP, de esta manera los podemos encontrar en suelos, sedimentos, agua dulce, marina y en la atmósfera (Díaz, 2004). En el ambiente exterior se introducen a partir de varias fuentes, los gases de escape de los motores de combustión de gasolina y especialmente de diesel, el "alquitrán" de los cigarrillos, la superficie de los alimentos carbonizados o quemados, el humo de la combustión de la madera o del carbón, así como otros procesos de combustión incompleta en los que el carbono del combustible no se ha convertido completamente a CO o a CO₂, aunque constituyen sólo un 0.1% de las partículas atmosféricas. La contribución de los HAP provenientes de fuentes naturales es muy limitada, restringida prácticamente a la quema espontánea de bosques y emisiones volcánicas. Las fuentes antropogénicas representan el principal proceso de emisión de los HAP. En el ambiente interior existe un grave problema que procede principalmente de la combustión del carbón y de la biomasa para cocinar,

aceite quemado y para la calefacción, sin ningún respiradero, consistente principalmente de HAP, dióxido de azufre y materia particulada (Baird, 2001).

Los HAP, han sido detectados en zonas urbanas y semi urbanas, aunque las mayores concentraciones se presentan en zonas urbanas densamente pobladas y en zonas industriales (Díaz, 2004).

El benzo(a)pireno (B(a)P), está clasificado por la EPA como un probable carcinógeno en humanos (categoría B2) (Molina, *et. al.* 2005). Es bio-activado en el hígado formando un epoxidiol que se liga al DNA, los productos del metabolismo son más tóxicos que la molécula original (Figura. 8.1.). La biotransformación ocurre para hacer más hidrosolubles los compuestos para su eliminación, pero los metabolitos intermedios son muy reactivos y pueden unirse covalentemente con ácidos nucleicos, proteínas o lípidos formando aductos (Díaz, 2004).

Las moléculas de HAP no son por si mismos agentes cancerígenos, en lugar de ello se transforman por medio de reacciones metabólicas que ocurren en el cuerpo. La primera transformación química que ocurre en el cuerpo, es la formación de un anillo epóxido en un enlace C=C en el HAP. (A). El epóxido es blanco de la enzima de fase I epóxido hidrolasa que lo hidroliza generando dos grupos hidroxilo formando el compuesto B(a)P-dihidrodiol que sufre una segunda epoxidación por el CYP para dar lugar al carcinógeno B(a)P-diol epóxido. (C). Por adición de iones H⁺, esta molécula forma un catión particularmente estable que puede enlazarse a moléculas como el ADN, con lo que se inducen mutaciones y cáncer. Las reacciones metabólicas de formación de epóxido y adición de H₂O, son una parte del intento del cuerpo de introducir grupos -OH en moléculas hidrofóbicas como los HAP, para hacerlas más solubles y eliminarlas (Figura 4.11).

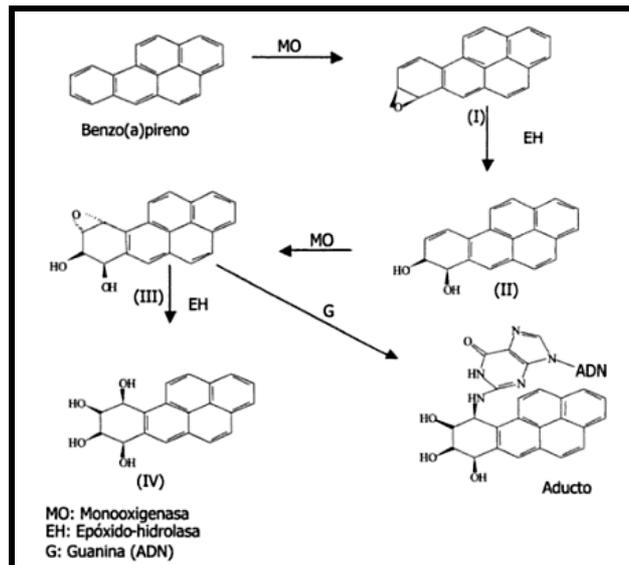


Fig 4.11. Mecanismo de eliminación y activación metabólica del benzo(a) pireno y representación esquemática del derivado formado por la interacción con el DNA (López, 1996; Díaz, 2004).

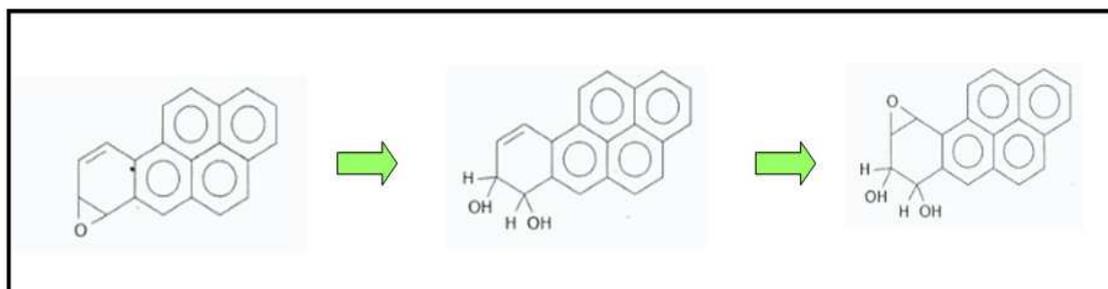


Fig 4.12. Mecanismo de la carcinogénesis de los HAP (Fuente: Baird, 2001).

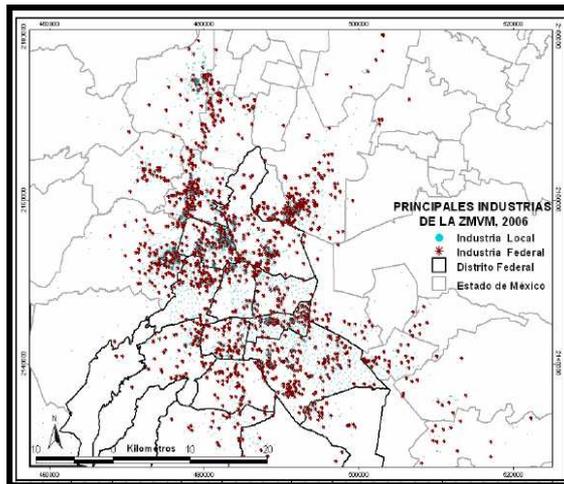
La evidencia de la inducción de cáncer de pulmón y de hígado es debido a la presencia de HAP, por exposición (elevada) y por mucho tiempo con este agente. La causa principal del cáncer de pulmón es la inhalación de humo de tabaco, el cual contiene muchos compuestos cancerígenos, además de HAPs. Los HAP, son los cancerígenos más potentes, poseen una región con bahía formada por la ramificación en la secuencias de anillos bencénicos, la organización de los átomos de carbono en forma de una región con bahía imparte un grado elevado reactividad bioquímica al HAP (Baird,2001).

Además es posible que los riesgos de padecer cáncer por los HAP se traslapen con aquéllos de las partículas de la combustión de diésel. En virtud de que no se han determinado la potencia de muchos de los compuestos individuales de

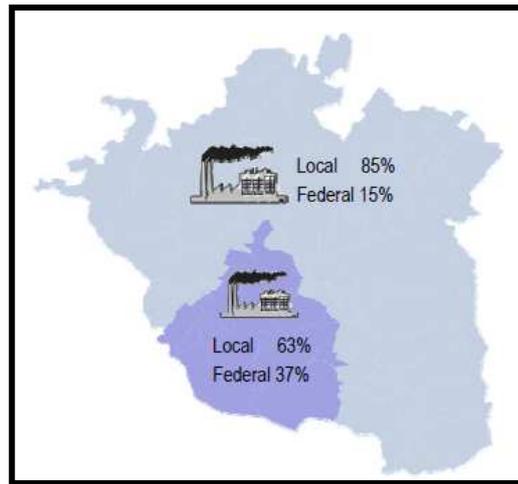
los PAH, es común sustentar la de éstos con base en la toxicidad relativa del B(a)P, del que existen gran cantidad de datos. De acuerdo con la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer los fumadores pasivos tienen un riesgo de padecer cáncer de pulmón del 20% en mujeres y 30% en hombres. (IARC, 2004; Husgafvel, 2004).

V. Fuentes puntuales de emisión de contaminantes

Consumen el 27% de la energía total generada por la combustión de combustibles fósiles en la ZMVM, siendo el consumo de gas natural el principal combustible utilizado en el sector. Se dividen en emisiones: horarias, anuales, por rama industrial, por tipo de contaminante.



Mapa 5.1 Ubicación industrial, ZMVM
(Fuente: SMAGDF, 2008).

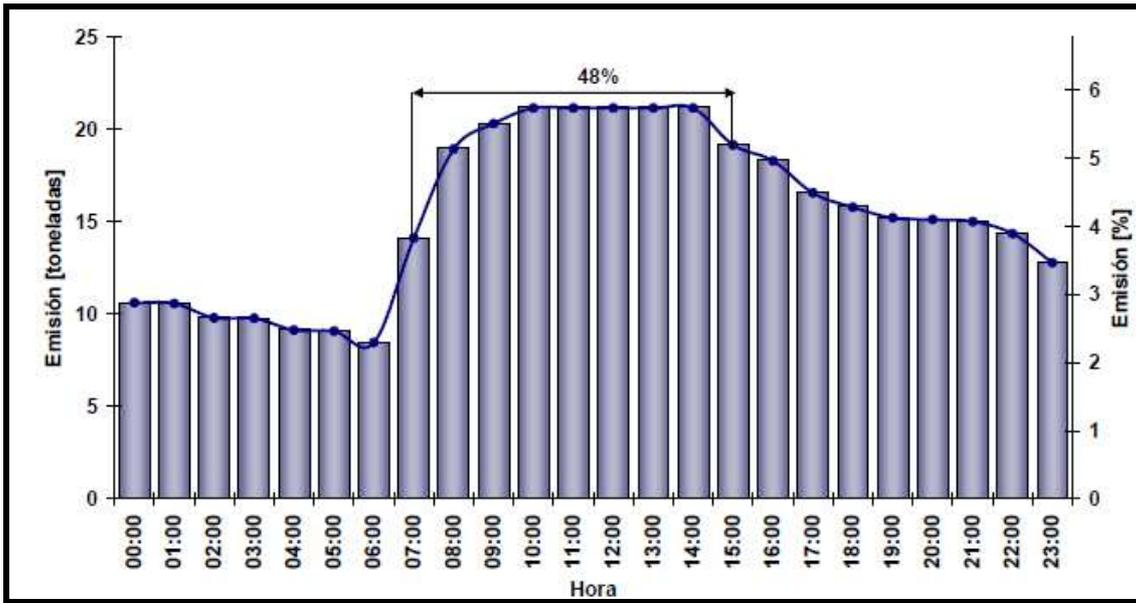


Mapa 5.2. Porcentaje de industrias por entidad y jurisdicción, (Fuente: SMAGDF, 2008).

Para el año 2006, se analizaron 7,826 industrias registradas en la ZMVM, de estas 6,042 son de gobiernos locales, donde el 71% se localizan en el Edo. de México y el 29% en el Distrito Federal (Mapa 5.1 y 5.2).

Emisiones horarias

Se desarrolló con base a la información referente al número de horas de operación y de inicio de labores de las empresas. El 95% de las empresas inician sus labores entre las 6:00 las 9:00 horas de la mañana y laboran hasta las 20:00 o más horas diarias (SMAGDF, 2008) Gráfica 5.3



Gráfica 5.3 Emisión horaria de COV de las fuentes puntuales (Fuente: SMAGDF, 2008).

VI. Fuentes móviles de emisión de contaminantes.

Éstas se encuentran directamente relacionadas con los problemas de movilidad en la ZMVM, debido a que la gran cantidad de vehículos en circulación han saturado las principales vialidades. Los problemas que se observan son: el congestionamiento vehicular que complica la circulación del transporte de pasajeros y de carga de mercancías, el aumento en los tiempos de traslado tanto de personas como de productos y un mayor consumo de combustibles, lo que se traduce en mayores emisiones de contaminantes y en consecuencia, niveles más elevados de contaminación de aire (SMAGDF, 2008).

El 95% de la flota vehicular de la ZMVM utiliza gasolina como combustible, el 4% son unidades a diesel y los vehículos restantes utilizan principalmente gas licuado de petróleo (GLP) y en menor volumen, gas natural comprimido (SMAGDF, 2008).

VII. Xenobióticos

Los xenobióticos son compuestos que no se encuentran naturalmente en el ambiente y son introducidos al cuerpo por la ingesta de alimentos, bebidas, medicamentos o por inhalación de contaminantes presentes en el aire. La vías más comunes de exposición a estos agentes son las inhalatorias y la oral. Muchos de los xenobióticos son hidrofóbicos, lo que dificulta su eliminación del organismo, para lo que se requiere que se transformen en compuestos hidrofílicos para ser eliminados en el sudor o la orina (Arine, *et. al.* 1997; Pérez, 2006). Los principales tipos de daños provocados por los xenobióticos sobre las funciones celulares son consecuencia de las interacciones que tienen lugar entre las estructuras de los xenobióticos que penetran en el organismo y debido a sus metabolitos activados, pueden aparecer diversos tipos de daños en las funciones. Los daños resultan ser numerosos y variados, al menos se pueden clasificar en seis grupos principales:

- ⇒ Por interferencia con el funcionamiento de sistemas enzimáticos.
- ⇒ Por interferencia con las funciones generales de la célula.
- ⇒ Por interferencia con el funcionamiento del sistema DNA-RNA sintetizador de proteína.
- ⇒ Por bloqueo de la capacidad transportadora del oxígeno de la hemoglobina.
- ⇒ Por regiones de sensibilización.
- ⇒ Por irritación química directa de los tejidos.

Entre los tóxicos de acción sistémica que pueden afectar el organismo vivo se encuentran algunos xenobióticos que ejercen su actividad tóxica sobre las células de los diferentes órganos y tejidos corporales, en cuyo material hereditario inducen aparición de mutaciones. En estos casos, las células pueden verse perturbadas a través de procesos generales, que pueden responder a dos tipos de efectos, según actúen sobre las estructuras celulares o bien sobre alguna de sus funciones (Gutierrez *et. al.* 2001).

VIII. DNA y cromosomas

Las células tienen la capacidad de almacenar, expresar y recuperar el material genético que es requerido para mantener y producir a un organismo vivo. La información genética es transmitida de una célula a sus descendientes mediante el proceso de división celular y de una generación a otra de organismos mediante las células reproductoras. La información es almacenada en los genes, que permiten determinar las características de las especies como poblaciones, comunidades y como individuos.

Un cromosoma es una estructura compuesta por una molécula muy larga de DNA y por proteínas asociadas, que contienen parte o toda la información hereditaria de un organismo. Cuando cada cromosoma se condensa en una estructura compacta, se puede visualizar en el microscopio óptico (Bruce, 2004).

En una célula eucarionte humana, el DNA se encuentra en el núcleo, distribuido en 23 cromosomas diferentes. Cada cromosoma está formado por una sola molécula de DNA, que se asocia a proteínas que se pliegan y empaquetan en la fibra de DNA formando una estructura más compacta, este empaquetamiento de fibra y proteínas se denomina cromatina.

Las células humanas, con excepción de las células germinales, contienen dos copias de cada cromosoma, una heredada de la madre y otra del padre, estos cromosomas son denominados, cromosomas homólogos y la única pareja de cromosomas no homólogos, son los cromosomas sexuales, el Y (Hombres) y el X (Mujeres); De tal manera que se obtienen 46 cromosomas, 22 pares son comunes para hombres y mujeres, llamados autosómicos y los otros dos se denominan cromosomas sexuales (Figura 8.1).

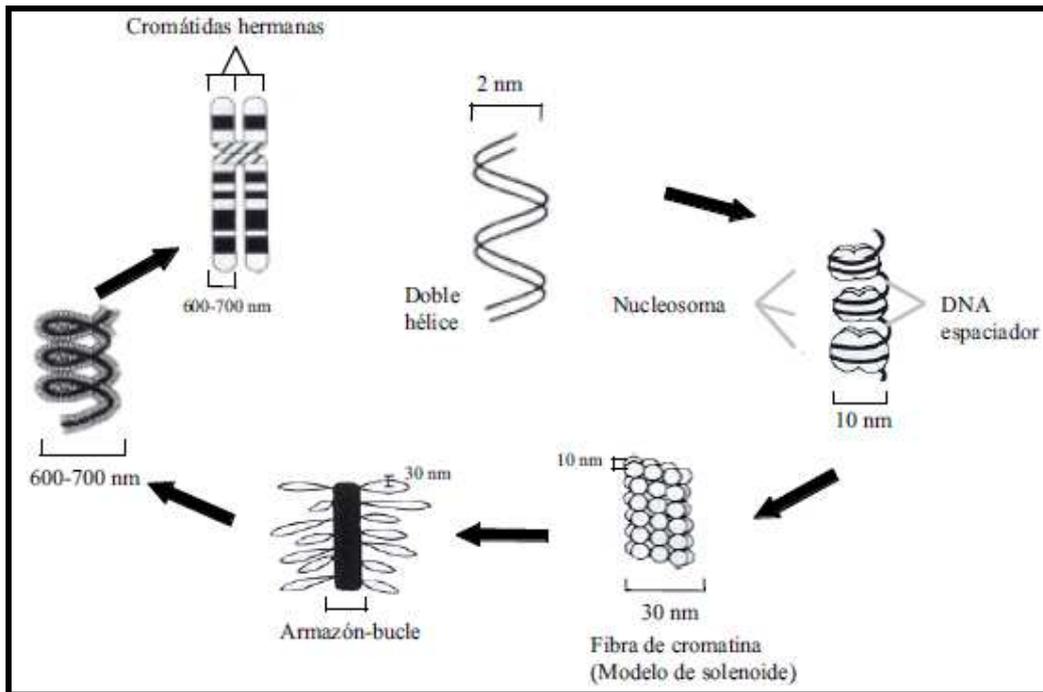


Fig.8.1. Organización del DNA en eucariotes desde la doble hélice de DNA hasta el cromosoma metafísico (Strachman y Read, 1996; Puerto, 2001).

Por medio del ciclo celular (Fig. 8.2.) que es una serie de etapas ordenadas que pasa la célula (madre) en donde tiene la capacidad de duplicar su contenido genético y posteriormente dividirse en dos células (hijas). Durante la etapa de la interfase, la célula transcribe activamente sus genes y sintetiza proteínas y antes de su división celular el DNA se replica y los cromosomas se duplican. Cuando se ha completado la replicación del DNA, la célula entra en la etapa de mitosis (M), en donde el núcleo se divide en dos, durante esta etapa los cromosomas se condensan, la envoltura nuclear se rompe y se forma el huso mitótico por medio de microtúbulos y otras proteínas. Los cromosomas condensados son enlazados por el huso mitótico, y ya anclados son arrastrados hacia cada uno de los polos de la célula. En torno a cada juego de cromosomas, se forma una nueva envoltura nuclear y en la fase final de la etapa M, la célula se divide generando dos células hijas. La mayor parte del ciclo celular corresponde a la interfase, siendo breve la etapa M.

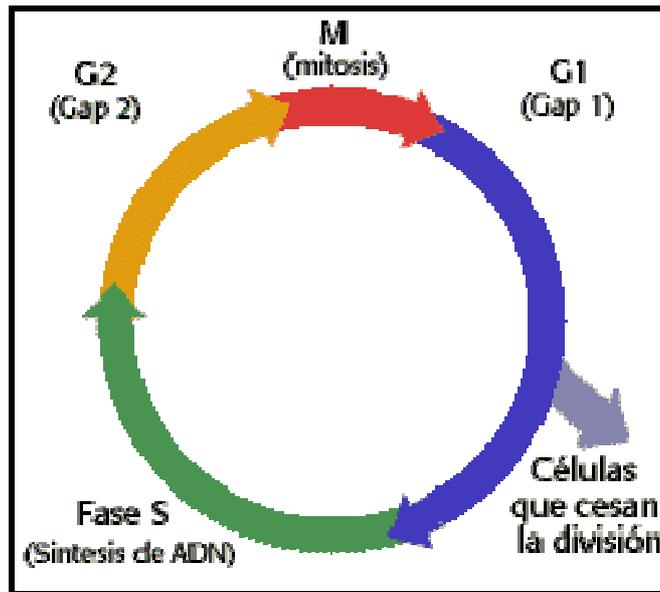


Fig. 8.2. Esquematización del Ciclo celular
(Fuente: <http://www.biologia.arizona.edu>).

IX. Mutación

El DNA es una molécula estable con la capacidad de mantener la información genética: Las alteraciones que se producen se corrigen por medio de diferentes mecanismos de reparación, no obstante, pueden generarse cambios en la secuencia de nucleótidos, proceso conocido como mutación.

Fig. 9.1 Tipo células, Magnitud y mecanismo de mutaciones.

MUTACIONES	Tipo de célula	Somática 	Germinal 
	Magnitud	Grandes mutaciones o anomalías cromosómicas Mutaciones "medias" en secuencias repetidas. Mutaciones pequeñas o puntuales.	
	Mecanismo	<p>Mutaciones Endógenas (espontáneas o fortuitas)</p> <p>Mutaciones Exógenas (Inducidas por mutágenos)</p>	<p>Errores de replicación Desaminación oxidativa de bases Inestabilidad química de N-glicosídico Mutágenos endógenos:</p> <p>Agentes químicos: Aquilantes Intercalantes bifuncionales</p> <p>Agentes físicos: Radiación ultravioleta (UV) Radiaciones ionizantes</p> <p>Agentes Biológicos: Virus Transposones</p>

Mutaciones endógenas

- Sustitución de bases:
 - *Transiciones:*
 - Sustituciones de un par pirimidina-purina por otro.



Se produce espontáneamente o también puede inducirse químicamente por compuestos tales como el 5-bromouracilo o el ácido nitroso.

- *Transversiones:*

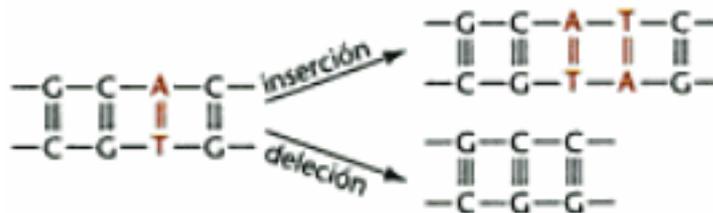
- Reemplazo de un par purina-pirimidina por un par de pirimidina-purina.



Tiene lugar espontáneamente y es frecuente en el humano. Aproximadamente, la mitad de las mutaciones en la hemoglobina son de este tipo.

• Desplazamiento del marco de lectura:

- *Inserción de un nuevo par de base.s*
- *Eliminación de un par de bases.*
- *Eliminación de un grupo de pares de bases de la secuencia de bases del DNA del gen.*



Mutaciones exógenas

Algunas inserciones pueden estar causadas por mutágenos tales como acridinas, proflavina, bromuro de etidio. Las eliminaciones son producidas a menudo por agentes desaminantes, lo que impide el emparejamiento de bases (Tomas, 2000).

Los principales agentes mutagénicos son las radiaciones y ciertos compuestos químicos. Los agentes alquilantes pueden afectar tanto a la estructura de las bases como a la organización de los enlaces fosfodiéster, produciéndose así la fragmentación de las cadenas de DNA. Además, los agentes alquilantes pueden interaccionar de forma covalente con ambas hebras, creando entonces puentes interhebras (Tomas, 2000).

La modificación física del DNA principalmente son las fluctuaciones térmicas o reacciones con formas reactivas de oxígeno. La desaminación espontánea de la citosina en el DNA humano tiene lugar con una frecuencia de 100 pb por genoma y la despurinización del DNA, por causa de la ruptura térmica. Otros cambios que tienen lugar en el DNA, puede conducir o bien a la delección de uno o varios pares de bases en la molécula de DNA hija, después de la replicación del DNA o bien a la sustitución de un par de bases.

La radiación ultravioleta, que incluye la luz solar, como los rayos X, son generalmente medios muy efectivos para producir mutaciones. La energía de la radiación que absorbe el DNA induce la formación de pequeñas cantidades de formas ionizadas de las bases. Estas formas ionizadas no se aparean con sus parejas regulares y forman pares de bases atípicos, por lo que es esperable que la presencia de bases ionizadas en el momento de la replicación del DNA incremente la frecuencia de mutación en las hebras de DNA recién sintetizadas. La irradiación con luz UV, produce la formación de dímeros entre bases adyacentes de pirimidina. La activación del enlace etileno de estas bases conduce a la dimerización fotoquímica de dos pirimidinas adyacentes.

La exposición elevada a rayos X o a rayos gamma, puede producir también modificaciones directas en las estructuras de las bases, lo que produce anillos heterocíclicos de las bases nitrogenadas y la rotura de enlaces fosfodiéster. En presencia de oxígeno tienen lugar reacciones adicionales que dan productos de oxidación.

X. Reparación del DNA

La capacidad de una célula para detectar y reparar daños en el DNA es esencial para el mantenimiento de la integridad estructural del genoma en general y de sus genes en particular. Existen diversos sistemas enzimáticos, por lo que se pone en manifiesto la supervivencia celular. Debido a esto se sustenta que la velocidad de mutación es el reflejo del balance entre el número de errores ocurridos y corregidos: Una baja tasa de mutación, indica una gran eficiencia de los sistemas de reparación, mientras que un fallo de éstos conduce a un aumento del número de mutaciones (Luque, 2002).

Mecanismo de reparación por escisión de nucleótidos.

Este mecanismo se basa en la eliminación de la base nitrogenada, nucleótido o segmento de DNA defectuoso y que se reemplaza por otro nuevo, de secuencia correcta. Este proceso tiene varias etapas en el que intervienen distintas proteínas. El proceso se inicia a través del reconocimiento molecular de la lesión (Bautista, 2005; Luque, 2002).

La reparación mediante escisión de nucleótidos es el mecanismo de reparación más general en todos los organismos. Repara en esencia todas las clases de daño a DNA, incluso producto de la luz UV y aductos químicos que no se eliminan mediante otros mecanismos (Bautista, 2005; Klaassen y Watkins III, 2001).

XI. Marcadores biológicos

Son elementos relacionados con la actividad de los seres vivos, que permiten determinar eventos relacionados con su fisiología de manera cualitativa o cuantitativa (Gonsebatt, 1994). En epidemiología ambiental se pueden emplear cuatro tipos de marcadores biológicos (dosis interna, efecto biológico temprano, susceptibilidad genética y de estructura y función) estrechamente relacionados con la intensidad de exposición ambiental.

Se utilizan para obtener valoraciones genéticas para identificar mutágenos de células germinales o en células somáticas, así como carcinógenos potenciales y para diversas clases de alteraciones genéticas que son importantes para la salud humana.

Las valoraciones para mutaciones de genes, ACs y otros marcadores de daño a DNA, se han utilizado para estudiar los efectos genéticos de ciertas sustancias químicas.

Tabla 15.1. Descripción de biomarcadores más utilizados.

Marcador Biológico	Características	Ejemplos
Dosis interna	Miden la presencia de un agente exógeno, en el interior del organismo. En su forma original o metabólicamente alterado (Piedrón et al. 2003).	Aduetos de DNA-HAP
Efecto Biológico temprano	Miden la cantidad del agente que ha interactuado con las moléculas dianas de las células (Lodovici et Al, 2004; Pérez, 2006).	ACs con Giemsa, intercambio de cromátides hermanas, micronúcleos y aductos
Susceptibilidad Génica	Incluye el análisis de genes importantes en el desarrollo de la enfermedad.	Genes CYP 1A1, CYP1B1, GSTM1.
Estructura-función	Incluyen las alteraciones más frecuentes (Huber et al. 2004; Pérez, 2004).	Inestabilidad genómica a través de ganancia y pérdida de grandes regiones cromosómicas (Marcadores tumorales)

XII. Aberraciones cromosómicas como indicador biológico de genotoxicidad.

Desde principios de los años setenta (70's), los análisis citogenéticos de ACs en linfocitos de sangre periférica son técnicas aceptadas de monitoreo biológico de daño genético en células somáticas. y se emplean como biomarcadores de efecto en estudios de poblaciones, frecuentemente en el biomonitoreo en humanos y en estudios toxicológicos (Albertini, 2000).

La presencia de aberraciones cromosómicas en cultivos de linfocitos de sangre periférica es un indicador de riesgo para padecer cáncer (Rössner, 2005).

Las Aberraciones Cromosómicas (ACs), son variaciones en el DNA espontáneas o inducidas que pueden afectar tanto a su estructura, como a su número. (Puerto, 2001). Pueden ser estudiadas en cualquier población celular en ciclo o que no esté en ciclo, pero que pueda ser estimulada por un agente mitogénico (Gonsebatt, 1994).

Entre las ACs, podemos diferenciar a las aberraciones de tipo numérico y a las de tipo estructural. Las ACs numéricas, son variaciones, como su nombre lo dice en el número de cromosomas, ya sea por euploidía (alteración numérica en la dotación total de cromosomas) por ejemplo: células haploides, triploides, etc. o por aneuploidía (varios cromosomas dentro de la dotación) por ejemplo: células con monosomías, trisomías, etc. Las ACs estructurales, implican cambios en la secuencia lineal de los genes sobre los cromosomas, por pérdida, ganancia o reordenación de secciones particulares de los mismos y siendo constante el número de cromosomas (Au, 1991).

Las ACs de tipo estructural (Fig. 12.1), se forman a partir de lesiones inducidas en el DNA, dependiendo del origen de inducción, por lo que son consideradas rupturas en la doble cadena no reparadas o mal reparadas directamente involucradas en su formación. Sin embargo no se conocen los factores que pueden afectar su distribución en el genoma (Puerto, 2001).

Existen varias categorías de anomalías estructurales citogenéticas que han sido reportadas (Figura. 12.1). (Sharkey , et. al.. 2005). Y son las siguientes:

a. Translocaciones recíprocas (Intercambio de material cromosómico, entre cromosomas no homólogos) o Translocaciones Robertsonianas (Fusión de dos cromosomas acrocéntricos). Las translocaciones son clasificadas en *balanceadas* (Ganancia no aparente o pérdida de material cromosómico) y las *no balanceadas* (Rearreglo que resulta aneuploidía).

b. Inversiones, se generan cuando el orden normal del material genético en el cromosoma es alterado por una reparación anormal de los puntos de rompimiento de los cromosomas. Existen también 2 tipos: *Paracéntricas* (Incluyen el centrómero de los cromosomas) y las *pericéntricas* (no lo incluyen).

c. Deleciones y duplicaciones: Son rearrreglos estructurales que pueden estar involucrados con una única cromátide homóloga (intercambio de cromátides hermanas) o con ambos cromosomas homólogos (recombinación entre homólogos) (Shaffer, 2000).

d. Anillos cromosómicos, son causados por la fusión de las partes terminales de los cromosomas.

e. Sitios frágiles. Son aparentemente brechas (gaps) en los cromosomas y pueden ser de doble expansión o de pequeñas repeticiones de DNA. Son esporádicos y reflejan un nivel del daño en la maquinaria de reparación del DNA, su frecuencia puede incrementarse por la elevada exposición con el agente genotóxico. (Rooney, 2001).

Una brecha cromatídica es una discontinuidad en una cromátida con una pequeña lesión. Y un rompimiento cromosómico muestra una lesión desplazada, por lo que su frecuencia se incrementa debido a la exposición a agentes como la radiación ionizante, mutágenos y virus, los cuales son los causantes del daño al DNA (Rooney, 2001).

La exposición a HAPs, gasolina, plomo o benceno correlaciona con niveles altos de ACs. Los niveles altos de ACs y el riesgo de padecer cáncer en sujetos no expuestos podrían estar asociados a carcinógenos que se encuentran en el ambiente, como también, a la influencia de la dieta y a la deficiencia de micronutrientes, tales como el ácido fólico o folato. La exposición a HAPs en la dieta en la población no fumadora puede ser significativamente alta (Rothman, 1990).

El tipo de aberraciones observado en los cultivos de linfocitos de los individuos expuestos depende del agente con el que estuvieron en contacto, como radiación ionizante o agentes químicos (Natarajan y Obe, 1984; WHO, 1985; Gonshebbatt, 1994).

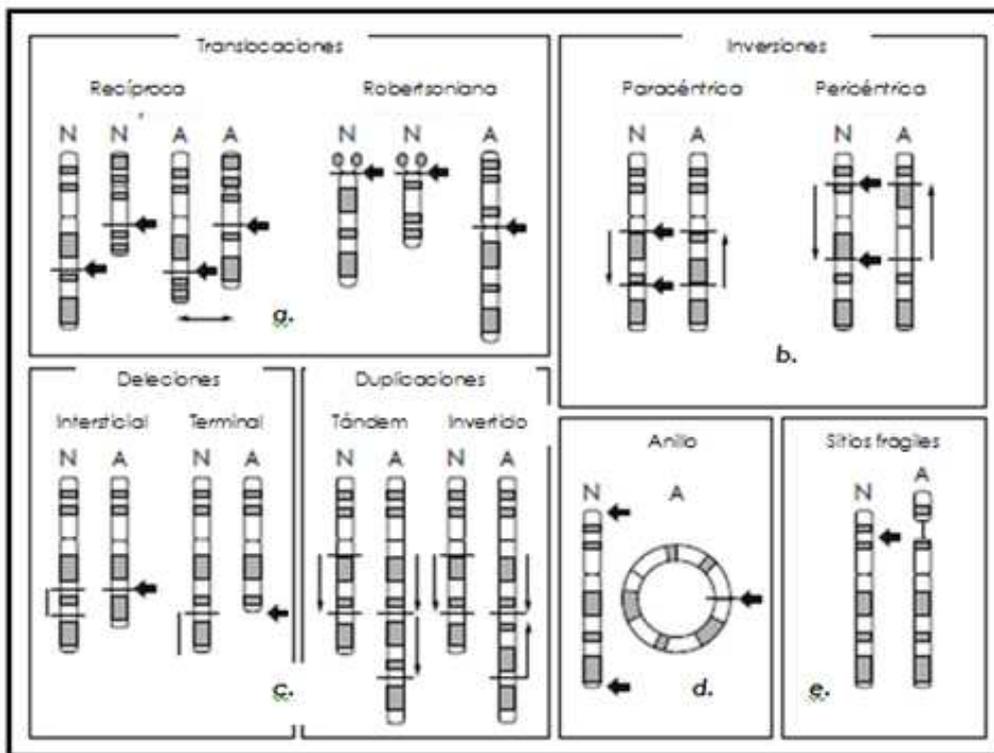


Fig. 12.1. Anormalidades citogenéticas comunes (Sharkey , *et. al.* 2005).

Esencialmente, los linfocitos se localizan en la fase G_0 de su ciclo celular, por lo que después de recibir una radiación ionizante las aberraciones de tipo cromosómico serán inducidas en los linfocitos en G_1 y posteriormente se podrán observar en la primera metafase después del estímulo con un

mitógeno. La reducción de aberraciones en la fase G_1 , significa la frecuencia que puede relacionarse directamente con la dosis recibida. Se ha mostrado que la frecuencia de aberraciones en el hombre inducidas tanto *in vitro*, como *in vivo*, es la misma por la misma dosis. Debido a esto, una curva estándar de dosis-respuesta, para cualquier tipo de radiación, puede obtenerse con exposiciones *in vitro* y puede ser utilizada para estimar las dosis recibidas por individuos como resultado de accidentes durante exposiciones médicas o ambientales (Brandán, et. al., 1990, Gensebatt, 1994).

Para que el daño al DNA, inducido por tratamientos químicos, se traduzca en ACs, las células deben de pasar por fase S, así la mayoría de las aberraciones será de tipo cromatídico, con algunas excepciones. Por consiguiente es importante considerar que la probabilidad de inducir aberraciones en células G_1 o en G_2 después de un tratamiento con agentes químicos es baja, pero es considerablemente aumentada cuando las células tratadas están en, o pasan por la fase S.

La inducción del daño al DNA por agentes químicos en linfocitos no ciclantes, no se convertirá en aberraciones hasta que las células sean estimuladas a entrar en ciclo *in vitro* y empezar la duplicación del DNA. Dado que el daño al DNA, puede ser reparado en las células en G_0 , así como durante la primera fase G_1 , la frecuencia de aberraciones no será necesariamente proporcional a la cantidad de daño inducido al DNA, sino más bien a la cantidad de daño al DNA presente en el momento de la duplicación, el cual tiene el potencial de transformarse en aberraciones y dependerá de diversos factores incluyendo:

- ⇒ La dosis del agente químico recibido.
- ⇒ La cantidad inducida del tipo particular de daño al DNA que puede originar aberraciones (valor que puede variar con el agente).
- ⇒ Cantidad de reparación en las células en G_0 antes del muestreo (Tiempo-exposición y el muestreo).
- ⇒ Cantidad de reparación en células en fase G_1 , a partir de la estimulación mitogénica hasta la primera fase S *in vitro*.

Muchos de estos puntos estarán sujetos al mismo tiempo a variaciones individuales. Ello da como resultado que de la mayoría de los agentes químicos, sólo una porción del daño inducido al DNA efectivamente se convierta en aberraciones cromosómicas en el momento de la duplicación. La reparación del daño al DNA reduce la sensibilidad del linfocito para la medición de exposición a agentes químicos, lo que originará una frecuencia de aberraciones que en el mejor de los casos es sólo indirectamente proporcional a la exposición. Si existe un incremento en las ACs en grupos potencialmente expuestos comparados con grupos testigos se puede concluir que ha habido exposición a un agente clastogénico, pero no se puede estimar el nivel de exposición. Para ello se utiliza la correlación de estos marcadores de efecto con marcadores biológicos de exposición. Por consiguiente, si no existe diferencia en la frecuencia de ACs entre los grupos expuestos y sus grupos testigos asociados, no es posible descartar exposición. Sin embargo es posible, deducir un nivel de exposición máxima que no esté asociada con una diferencia notable a nivel de la frecuencia de aberraciones (WHO, 1985; Gensebatt, 1994).

XIII. Variantes alélicas CYP 1B1 Leu₄₃₂Val

El CYP 1B1 es una enzima hemo-oxigenasa de la superfamilia de citocromos p450, es capaz de activar una variedad de carcinógenos, como los hidrocarburos aromáticos policíclicos, arilaminas y está involucrado, en el metabolismo de estradiol (Wenzlaff, 2005).

El citocromo CYP 1B1, está controlado transcripcionalmente por la vía AHR-ARNT (receptor de aril hidrocarburos-translocador nuclear de arilos), por sus siglas en inglés; Es la vía que induce los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), TCDD (Schmidt y Bradfield 1996, Hukkane, 2000).

El receptor de aril hidrocarburos (AHR), es una proteína con dobles cadenas alfa y pertenece a la familia de los factores de transcripción PAS (Per-Arnt-Sim). Induce la expresión transcripcionalmente en humanos de CYP1A1, CYP1A2 Y CYP1B1, así como otros genes incluyendo enzimas de fase II. Los ligandos de AHR son HAP o TCDD. (Hukkane, 2000). Un solo ligando de AHR, se mantiene en el citoplasma celular con un dímero de proteínas chaperonas como HSP 90 (Heat Shock Protein 90), ARA 9 (llamada también AIP1 o XAP2) y por último p23. Este dímero se estabiliza y las proteínas chaperonas son translocadas al núcleo por medio del translocador nucleolar (ARNT) en heterodímeros (Hoffman, et. al. 1991; Hukkane, 2000). Posteriormente este heterodímero se une a secuencias conocidas como elementos de respuesta de xenobióticos (XRE) y activan la transcripción de genes CYP (Hankinson, 1999; Hukkane, 2000). La proteína PAS, llamada represor de AHR, inhibe la señal de transducción de AHR por competencia con ARH con ARNT y también se unen a XRE. El receptor AHR se induce por HAP/AHR y de esta forma hay retroalimentación para la regulación de AHR (Mimura et.al. 1999; Gu et.al. 2000; Hukkane, 2000). La proteína

cinasa C y tirosina cinasa son activadas en la señal de transducción de AHR y la inhibición de estas cinasas bloquea la inducción de genes blancos (Kikuchi et.al., 1998; Hukkannen, 2000) (Fig. 12.1).

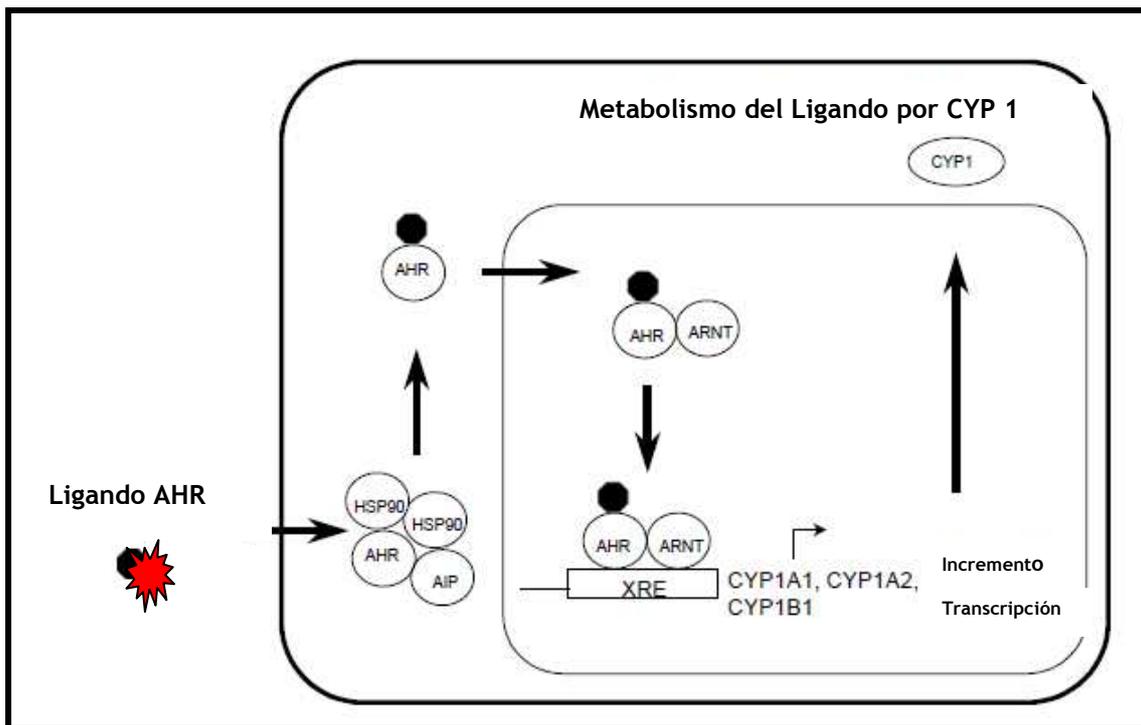


Fig 12.1 Representación esquemática del mecanismo AHR, mediante la inducción del CYP 1 (Fuente: Xenobiotic-Metabolizing Citochromo P450 enzyme in human lung, Hukkanen, 2000).

El gen CYP 1B1 que se localiza en el cromosoma 2p 22-21 contiene 3 exones y 2 intrones, su secuencia codificante está contenida en los exones 2 y 3. Este gen se expresa principalmente en hígado y otros tejidos como riñón, próstata, útero, ovarios, placenta, monocitos, es inducible por el receptor de arilos y activado, a través de su receptor, por hidrocarburos aromáticos policíclicos. Los niveles de expresión de CYP 1B1 en leucocitos son mayores en hembras que en machos (Wenzlaff, 2005).

La transversión de Citosina → Guanina (C-G) en la posición 1666, exón 3, resulta en una sustitución del aminoácido Leucina por Valina (Leu - Val), en el codón 432 (Dominio de unión al grupo hemo, crítico en la función catalítica del gen). El alelo Val 432 tiene una actividad hidrolasa 3 veces más alta que el alelo Leu, además, la presencia del aminoácido Val 432, ha sido asociada con elevados niveles de aductos de hidrocarburos aromáticos policíclicos con DNA (PAH-DNA) en linfocitos (Schoket, 2001).

Un incremento en el rango de replicación celular, eleva la efectividad de mutágenos endógenos y exógenos que permiten convertir los aductos de DNA hacia mutaciones antes de que la reparación ocurra (Martínez, 2001). Por lo que los aductos no reparados pueden conducir a mutaciones o rompimientos en las cadenas de DNA durante la replicación que pueden dar lugar a ACs.

XIV. Cáncer

A nivel mundial, el cáncer es la principal causa de mortalidad, se le atribuyen 7.9 millones de defunciones ocurridas en 2007. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que alrededor de 84 millones de personas morirán a causa de esta enfermedad entre 2005 y 2015 (INEGI, 2009).

Todos los cánceres comienzan en las células de diferentes tejidos (dependiendo el tipo de cáncer). El cáncer es la generación rápida de células anormales que crecen más allá de sus límites normales y que pueden invadir zonas adyacentes del organismo o diseminarse a otros órganos en un proceso que da lugar a la formación de las llamadas metástasis (OMS, 2009). El cáncer es una enfermedad multifactorial, en la que el estilo de vida y la susceptibilidad genética individual son factores que pueden conducir a la transformación celular y al subsecuente desarrollo del cáncer. El modelo propuesto para el proceso carcinogénico incluye cuatro fases: la iniciación, la promoción, la conversión y la progresión (Tabla 2) (Wang *et. al.* Pérez, 2006).

Según la OMS, la mortalidad más alta es debida al cáncer de pulmón, seguido por el de estómago, hígado, colon y mama; por género las incidencias más frecuentes en los hombres son por cáncer de pulmón, estómago, hígado, colon-recto, esófago y próstata; y para las mujeres el de mama, pulmón, estómago, colon-recto y cuello uterino (INEGI, 2009).

Estudios epidemiológicos indican que las personas que habitan en áreas urbanas tienen un riesgo incrementado a padecer cáncer pulmonar en comparación con las que habitan en áreas rurales, debido a los altos niveles de contaminantes ambientales (carcinógenos y mutágenos) presentes en el aire en las ciudades. Debido a esto es importante dar evidencia de los efectos biológicos tempranos de la contaminación atmosférica en habitantes de la ZMVM, donde existe una zona altamente industrializada en el Norte, además de presentar diariamente emisiones de contaminantes por su densidad vehicular, para implementar medidas que favorezcan la calidad de aire y evitar el riesgo a desarrollar enfermedades como el cáncer pulmonar.

Tabla 13.1. Modelo del proceso carcinogénico (Díaz R. *et.al.* 1998; Pérez, 2006).

ETAPAS	CARACTERÍSTICAS
Iniciación	<p>Efectos directos y cambios irreversibles en el DNA, ocasionadas por agentes mutágenos y carcinógenos.</p> <p>Es posible detectar, biomarcadores tempranos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ⇒ Aductos DNA ⇒ Micronúcleos ⇒ Proteínas ⇒ Intercambio de cromátidas hermanas. ⇒ Aberraciones cromosómicas.
Promoción	<p>Es un proceso gradual que requiere la exposición prolongada de las células con agentes promotores. Ocurre un proceso de proliferación, donde las células iniciadas se expanden clonalmente y dan lugar a un tumor.</p>
Progresión	<p>Implica la conversión de células pre-malignas a células malignas. Ocurre espontáneamente debido a la inestabilidad genética propia de la célula, o puede ser acelerado por la exposición de elementos genotóxicos. Etapa en donde ocurre la vascularización del tumor y una serie de cambios que permitirán la migración del tumor.</p>
Metástasis	<p>Las células tumorales migran del tumor de origen a otros tejidos. Etapa en donde el tumor es clínicamente detectable, debido a los síntomas causados por las alteraciones específicas en cada tipo de cáncer.</p>

Justificación

La población de la ZMVM se encuentra expuesta a una elevada contaminación ambiental sobre todo, por inhalación directa.

El análisis de ACs es un buen biomarcador de efecto biológico temprano en linfocitos de sangre periférica por exposición a contaminantes ambientales en la población de la ZMVM.

La exposición a compuestos químicos y clastógenos presentes en la contaminación ambiental induce intercambios, rompimientos cromatídicos y cromosómicos, que son indicadores de riesgo para cáncer.

La bioactivación de los agentes genotóxicos en el ambiente de la ZMVM, dependerá de las variantes alélicas presentes en la población estudiada.

Hipótesis

Puesto que la ZMVM presenta mayor índice de contaminantes en invierno que en verano, se espera encontrar una mayor incidencia de ACs en invierno y en aquellos individuos que presenten la variante alélica de riesgo.

Objetivo General

Estudiar el impacto de la contaminación ambiental en habitantes de la ZMVM mediante detección de aberraciones cromosómicas y analizar si existe correlación entre este marcador de efecto y el marcador de susceptibilidad CYP 1B1 Leu₄₃₂Val, considerando posibles confusores (edad, estilo de vida).

Objetivos Particulares

- Determinar ACs estructurales en jóvenes habitantes de la ZMVM en las estaciones de invierno y verano.
- Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas del CYP 1B1 Leu₄₃₂Val y analizar si existen diferencias en los niveles de ACs estructurales entre sus portadores.

Material y métodos

Muestreo de individuos

Se realizó un estudio longitudinal prospectivo en voluntarios no fumadores aparentemente sanos. Después de su consentimiento informado mediante una encuesta se documentó, si su lugar de residencia era cercano (proximidad al lugar) a gasolinera(s) o fábrica(s), también si se habían expuesto recientemente a gasolina, thíner, pinturas, aerosoles, humo de leña o carbón, herbicidas, fertilizantes o insecticidas. En el caso del tabaquismo se les preguntó si habían tenido alguna exposición pasiva al humo del tabaco; se les preguntó sobre qué tipo de estufa empleaban, si usaban calefactor o chimenea, calentador de agua y si éste se localizaba dentro de la casa. Asimismo se les interrogó acerca del tipo de transporte que usaban y el tiempo diario de desplazamiento, así como el tiempo de actividades al aire libre, además si habían consumido recientemente alcohol y/o medicamentos.

Criterios de inclusión

Se diseñó un estudio longitudinal para investigar la presencia de ACs de leucocitos de sangre periférica de adultos jóvenes que viven en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México. A los voluntarios se le explicó el alcance del estudio y la necesidad de tomar muestras en dos ocasiones (invierno y verano) y después de firmar un consentimiento informado respondieron a un cuestionario en donde se recabó información acerca de su edad, domicilio, estado general de salud, antecedentes de tabaquismo, exposición a rayos X u otro agente genotóxico en los últimos seis meses, etc. (ver anexo).

Criterios de exclusión

De aproximadamente 500 individuos, se reclutaron 113 en invierno voluntarios que accedieron a dar muestras de sangre y orina y de 101 de ellos se obtuvieron muestras en verano. Después del análisis de cotinina en orina se descartaron 7 que presentaban valores compatibles con el hábito de tabaquismo. Por lo tanto, fueron finalmente 92 muestras analizadas. El género

más representativo con un 54,3% fue el femenino, mientras que 45.6%, fue el masculino; El 86.9% fueron estudiantes y 13% empleados; Sus edades fluctuaron entre los 18 y mayores de 30 años de edad.

Determinación de cotinina en orina

Para descartar muestras de posibles fumadores que por sus hábitos están más expuestos a HAP que la exposición ambiental, determinamos los niveles de cotinina en orina, mediante el *Kit Accutest NicAlert* que consiste en un inmuno-ensayo que utiliza anticuerpos monoclonales adheridos a partículas de oro coloidal y una serie de trampas de afinidad que permite la cuantificación; Los anticuerpos monoclonales para cotinina se adhieren a partículas de oro que son depositadas en tiras de aplicación para analizar muestras de orina o saliva. La cotinina en la muestra se une al anticuerpo ocupando su sitio de unión. La fuerza de unión de la partícula a la trampa de afinidad está en función de los sitios de unión a la cotinina que se encuentren libres.

La nicotina en orina no es un indicador confiable del estatus de fumar por su corta vida media, ya que es rápidamente metabolizada en el sistema circulatorio. La cotinina es uno de sus principales metabolitos tiene una vida media relativamente larga de 10 a 40 horas.

Toma de muestra

Se tomó una muestra de 5 mL de sangre a 113 individuos habitantes de la ZMVM. Las muestras se colectaron durante las estaciones de invierno (Febrero) y verano (Julio-Agosto) de 2006. La sangre se colectó en jeringas heparinizadas.

Cultivo de linfocitos

Los cultivos de linfocitos de sangre periférica se realizaron por duplicado utilizando el protocolo estándar (esta es una técnica de Morhead modificada por Gonsebatt, 1994). En tubos Falcon cónicos de 15 mL, estériles, se colocaron

0.5 mL de sangre en 5 mL de medio de cultivo RPMI-1640 suplementado y 200 μ L de L-glutamina. Los cultivos fueron incubados inclinados a 37°C por 72 horas.

Cosecha de linfocitos

Una media hora antes de la cosecha de linfocitos de sangre periférica, se agregó 60 μ L de colchicina a una concentración de (1 μ g/mL) a cada cultivo (de 5 mL de medio), para inhibir la formación del huso mitótico e interrumpir la división celular en la etapa de metafase. Posteriormente se centrifugaron a 1500 rpm durante 5 minutos, se quitó el sobrenadante y el paquete celular se sometió a choque hipotónico con una solución de KCl (0.075 M) previamente calentada a 37°C, se agregó hasta un volumen de 10 mL con agitación en vórtex, al terminar se incubaron los cultivos por 30 minutos a 37° C. Se realizó una pre-fijación con una solución llamada Carnoy de metanol y ácido acético (3:1) previamente fría a 4°C, se agregó 1 mL a cada cultivo y se resuspendió por inversión; se centrifugaron nuevamente a 1500 rpm por 5 minutos, se les tiró el sobrenadante y se pasó al proceso de la fijación, utilizando la misma mezcla Carnoy, se agregó muy lentamente 3 mL (gota a gota), al mismo tiempo que se resuspendió el botón en el vórtex, finalmente se llevaron hasta un volumen de 13 mL con el fijador; una vez cumplido el tiempo, las muestras fueron centrifugadas 2 veces más a 1500 rpm, durante 5 minutos para lavar el botón celular, hasta obtener un botón de linfocitos transparente.

Laminillas

Se elaboraron dos laminillas por cultivo, previamente se realizó la limpieza de las laminillas, se lavaron 50 laminillas con 500 mL de agua de la llave y 3 mL de jabón líquido extrán; se limpiaron con una gasa quirúrgica y se pre-lavaron en agua desionizada, finalmente se dejaron por 20 minutos en alcohol al 70% y a una temperatura de 4°C para la eliminación completa de grasa. Para el goteo de las metafases, se dejó hasta 1mL del sobrenadante y posteriormente se resuspendió el botón celular (esto fue cualitativo, porque pudo ser más o menos, esto dependió mucho de cuanta cantidad tuviéramos de linfocitos por individuo) en un baño maría a 75°C, se colocó una gradilla de plástico y se

colocaron dos laminillas, se gotearon 3 gotas a una distancia de 20 cm, se agregó posteriormente dos gotas de fijador Carnoy, se sopló ligeramente y retiraron las laminillas. Se dejaron escurrir y secar por 30 minutos a una temperatura de 22 °C. Subsiguientemente, se dejaron 24 hrs. en una estufa a 65° C para su mayor deshidratación; finalmente se realizó una tinción convencional con May Grünwald-Giemsa.

Tinción con May Grünwald-Giemsa.

Para la tinción con Giemsa, se utilizaron 23.5 mL de buffer de fosfato de sodio Na_2HPO_4 (0.4 M) a una concentración de 56.8 g/L y pH 7.0. Posteriormente se agregaron 23.5 mL de buffer de fosfato de potasio KH_2PO_4 (0.025 M) a una concentración de 3.4 g/L y pH 6.8, a temperatura ambiente se disolvieron 3 mL del colorante Giemsa, la mezcla se vertió en un Koplín de 50 mL. Finalmente se metieron las laminillas previamente deshidratadas, 3 minutos y se dejaron secar.

Análisis de aberraciones cromosómicas

Se efectuó un análisis de 100 metafases por muestra y por época del año. Se observaron únicamente aberraciones estructurales incluyendo brechas, en un microscopio de campo claro.

Purificación de DNA

Se purificó el DNA de sangre mediante el método de sales y perclorato de sodio (Daly et al., 1996) necesario para la genotipificación del marcador genético CYP 1B1 Leu₄₃₂Val.

Genotipificación

La variante alélica del gen CYP 1B1 Leu₄₃₂Val codifica una enzima perteneciente a la superfamilia de los citocromos P450 (hiproteína). La inducción del CYP 1B1 que regula la vía de AHR – ARNT (Lee, 2008), y se

caracterizó usando la técnica de PCR-RFLP. Para la amplificación de los templados, se utilizó un termociclador *Rapidcycler* de *Idaho Technology*; las condiciones del PCR se especifican más adelante en el texto. Los análisis de restricción se concibieron de acuerdo a las indicaciones de los proveedores; la información más detallada del marcador es descrita a continuación.

Marcador nuclear CYP 1B1 *Leu*₄₃₂*Val*

La determinación de la variante alélica del CYP 1B1 *Leu*₄₃₂*Val* fue realizada mediante una amplificación por PCR (Polymerase Chain Reaction) de la región que contiene la mutación empleando los "primer"s del extremo 5' TCA CTT GCT TTT CTC TCT CC 3' y del "primer" contrario, opuesto 5' AAT TTC AGC TTG CCT CTT G 3'. Las secuencias amplificadas fueron digeridas con la enzima *Eco* 57I a 37°C durante 15 horas. Posteriormente para visualizar los productos de digestión de la enzima se realizó una electroforésis en un gel de agarosa al 3%. Los fragmentos se tiñeron con bromuro de etidio Br Et (1µg/mL). Para el alelo *Leu* se observaron dos bandas que corresponden a los fragmentos de 310 y 340 pb (pares de bases) en cambio, para el alelo *Val* sólo se observó una banda de 650 pb (Tabla 1.1). Para su identificación, se utilizaron geles de agarosa, los cuales fueron revelados por fluorescencia con bromuro de etidio (BrEt 1µg/mL) y se utilizó el foto-documentador de *Kodak Gel Logia 200 Imaging Systems* para conservar los registros.

Tabla 1.1. Marcador Nuclear CYP 1B1 Leu₄₃₂Val

CYP 1B1										
a) 5' TCA CTT GCT TTT CTC TCT CC 3' 5' AAT TTC AGC TTG CCT CTT G 3'										
94°C, 2', 1 ciclo. 94°C, 15"; 60°C, 25"; 72°C, 30"; 40 ciclos. 72°C, 5', 1 ciclo. Slope 7.0										
b)										
CYP 1B1 Leu₄₃₂Val										
↑ Marcador 1Kb plus	<table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">=</td> <td style="text-align: center;">=</td> <td style="text-align: center;">=</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">(-/-)</td> <td style="text-align: center;">(+/-)</td> <td style="text-align: center;">(+/+)</td> </tr> </tbody> </table>	=	=	=	(-/-)	(+/-)	(+/+)			
=	=	=								
(-/-)	(+/-)	(+/+)								
<table border="1"> <tbody> <tr> <td>Homócigo silvestre</td> <td>Leu/Leu</td> <td>(+/+)</td> </tr> <tr> <td>Heterócigo</td> <td>Leu/Val</td> <td>(+/-)</td> </tr> <tr> <td>Homócigo mutante</td> <td>Val/Val</td> <td>(-/-)</td> </tr> </tbody> </table>		Homócigo silvestre	Leu/Leu	(+/+)	Heterócigo	Leu/Val	(+/-)	Homócigo mutante	Val/Val	(-/-)
Homócigo silvestre	Leu/Leu	(+/+)								
Heterócigo	Leu/Val	(+/-)								
Homócigo mutante	Val/Val	(-/-)								

Resultados

Distribución Geográfica de la muestra

La población estudiada habita principalmente en el D.F. (67%) y en menor proporción en el Edo. de México (33%); En el Distrito Federal las tres delegaciones más representada son: Tlalpan (15,4%), Coyoacán (13,2%), Iztapalapa y la Gustavo A. Madero (9,9%); en el Edo. de México, el municipio más representado fue Ecatepec (4,4%), posteriormente Nezahualcoyotl (3,5%) y finalmente Naucalpan y Texcoco (2,2%) habitantes. (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución Geográfica de la muestra.

ZMVM	No.	%
Álvaro Obregón	2	2,2
Atizapan de Zaragoza	1	1,1
Azcapotzalco	4	4,4
Benito Juárez	4	4,4
Coyoacán	12	13,2
Cuajimalpa	2	2,2
Cuauhtémoc	4	4,4
Cuautitlán Izcalli	2	1,1
Ecatepec de Morelos	4	4,4
G.A.M.	9	9,9
Iztacalco	5	5,5
Iztapalapa	9	9,9
Magdalena Contreras	5	5,5
Miguel Hidalgo	1	1,1
Milpa Alta	1	1,1
Naucalpan	2	2,2
Nezahualcoyotl	3	3,3
Texcoco	2	2,2
Tláhuac	1	1,1
Tlalpan	14	15,4
Venustiano Carranza	2	2,2
Valle de Chalco	1	1,1
Xochimilco	2	2,2
Total	92	100,0%

En la tabla 2 se muestran los valores límites en ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) y el tiempo promedio de muestreo para las normas nacionales de la calidad de aire de la OMS

comparadas con las de México y E.U.A. Se observa que tanto México como Estados Unidos rebasan los promedios permisibles de emisiones de esos contaminantes.

Tabla. 2 Valores límites en ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) y tiempo promedio de muestreo para las normas nacionales de la calidad de aire de la OMS, México y E.T.A.

Compuestos	Tiempo Promedio muestreo	OMS	México	E.U.A.
Ozono	1 hora	-	216	235
	8 horas	120	-	160
SO ₂	24 horas	125	341	365
	Anual	50	79	80
NO ₂	1 hora	200	395	-
	Anual	40	-	100
PTS	24 horas	*	260	-
	Anual	*	75	-
P.M. ₁₀	24 horas	*	120	150
	Anual	20	50	50
P.M. _{2.5}	Anual	10	60	65
Plomo	3 meses	-	1.5	1.5

No se ha establecido ningún valor de referencia para PTS y P.M₁₀ por que no existe un umbral evidente en cuanto a sus efectos en la salud. El límite para PM 10 reportado en los inventarios de emisiones de la ZMVM es $120\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Fuente: <http://www.cepis.org.html>).

En la tabla 3 se muestran las tendencias de los contaminantes emitidos en la ZMVM, desde el año 2004 hasta el 2009.

Tabla 3 Tendencias de los contaminantes atmosféricos y la calidad del aire anual de la ZMVM
(Fuente: <http://www.cepis.org.pe/bvsci/E/fulltext/riesgo/index.html>)

Año	NO _x ppm	NO ₂ ppm	SO ₂ ppm	PST $\mu\text{g}/\text{m}^3$	Pb en PST $\mu\text{g}/\text{m}^3$	P.M. ₁₀ $\mu\text{g}/\text{m}^3$	P.M. _{2.5} $\mu\text{g}/\text{m}^3$
2004	0.162	0.068	0.010	150	0.3	55	ND
2005	0.162	0.063	0.010	120	0.2	55	24
2006	0.160	0.060	0.008	110	0.3	50	22
2007	0.150	0.058	0.008	105	0.3	48	21
2008	0.151	0.059	0.007	110	ND	52	22
2009	0.153	0.065	0.007	190	ND	75	27

ND= No disponible / ppm= partículas por millón / $\mu\text{g}/\text{m}^3$ = microgramos por metro cúbico
Fuente Inventario de emisiones

En la tabla 4 se observan los datos demográficos (historia médica, vivienda, trasportación, ingesta de bebidas alcohólicas y exposición a disolventes u otros posibles agentes de exposición ambiental) de los sujetos que participaron en el

presente estudio y que se analizaron como posibles confusores en el análisis de daño genético.

La tabla 5 muestra la frecuencia de ACs tanto en invierno como en verano, dando como resultado mayor número de metafases con ACs de brechas cromatídicas, brechas cromosómicas y rompimientos cromosómicos en invierno que en verano. Mientras que en verano, hay tendencia a que se recobre un mayor número de rompimientos cromatídicos que en invierno.

Tabla 5. Aberraciones cromosómicas encontradas en invierno y verano.

Tipo de ACs	Invierno	Verano	p
% Frec. ACsT	2.1±1.7	1.6 ±1.5	0.020*
% Frec. metafases AE brechas/cromatídicas.	1.35±1.29	0.89±1.15	0.006*
% Frec. metafases AE brechas/cromosómicas	0.34±0.59	0.14±0.35	0.039*
% Frec. metafases AE Rompimientos/CM´	0.42±0.65	0.57±0.79	0.16
% Frec. metafases AE Rompimientos/CM´´	0.06±0.24	0.04±0.20	0.41

ACsT= Aberraciones cromosómicas totales, AE= Aberraciones estructurales, brechas/cromatídicas; Rompimientos/CM´: rompimientos cromatídicos; Brechas/cromosómicas; Rompimientos/CM´´: rompimientos cromosómicos. Prueba estadística Mann-Whitney. (*) Datos significativos.

Tabla 4. Características de la población

Características	Casos (N = 92)	
	N	(%)
Edad media (SD)	24.9	(4.89)
Género		
⇒ Femenino	50	54.3
⇒ Masculino	42	45.6
Ocupación		
⇒ Estudiantes	80	86.9
⇒ Empleados	12	13.0
Exposición reportada		
⇒ Gasolina	16	17.3
⇒ Thíner	12	13.0
⇒ Pinturas	12	13.0
⇒ Aerosoles	5	5.4
⇒ Humo leña	9	9.7
⇒ Carbón	10	10.8
⇒ Herbicidas	3	3.2
⇒ Fertilizantes	3	3.2
⇒ Insecticidas	14	15.2
⇒ Medicamentos	30	32.6
⇒ Vitaminas	26	28.2
⇒ Consumo alcohol	56	60.8
Fumadores pasivos	24	26.0
Exposición hrs. media (SD)	8.1	(8.38)
Gasolineras	53	57.6
Uso del transporte público		
Trayecto (hrs.) media (SD)	2.3	(0.96)
⇒ Autobús	53	57.6
⇒ Metrobús	53	57.6
⇒ Metro	50	54.3
⇒ Automóvil	29	31.5
⇒ Microbus	54	58.6
Vivienda		
Tipo de estufa		
⇒ Gas (G)	86	93.4
⇒ Eléctrica (E)	1	1.0
⇒ G/E	5	5.4
Calefacción		
⇒ Calefactor	2	2.1
⇒ Ninguno	91	98.9
Localización boyler		
⇒ Interior	28	30.4
⇒ Exterior	78	84.7

En la tabla 6 se muestran los porcentajes de ACs en grupos de distintas edades. Se observa que los individuos mayores de 30 años presentan en verano mayor porcentaje de metafases con ACs de tipo rompimiento cromosómico.

Tabla 6. Aberraciones cromosómicas encontradas en los individuos de acuerdo a su edad.

Tipo de ACs	Invierno				p	Verano				p
	18-21 N= 15	22-25 N=27	26-29 N=27	>30 N=10		18-21 N=18	22-25 N=34	26-29 N=28	>30 N=11	
% ACsT	2.13±1.35 (2.0)	2.70±2.09 (3.0)	1.8±1.03 (1.5)	1.8±1.03 (1.5)	0.45	1.55±1.61 (1.0)	1.61±1.49 (1.0)	1.46±1.40 (1.0)	2.27±1.79 (2.0)	0.52
%AE B/CM´	1.09±1.13 (1.0)	1.55±1.47 (1.0)	1.1±0.73 (1.0)	1.1±0.73 (1.0)	0.79	0.82±1.13 (1.0)	0.82±1.08 (1.0)	0.89±1.06 (1.0)	1.0±1.54 (0.0)	0.98
% AE B/CM´´	0.8±1.20 (0.0)	0.48±0.75 (0.0)	0.2±0.42 (0.0)	0.2±0.42 (0.0)	0.34	0.33±0.76 (0.0)	0.32±0.47 (0.0)	0.07±0.26 (0.0)	0.27±0.46 (0.0)	0.12
% AE R/CM´	0.46±0.83 (0.0)	0.55±0.64 (0.0)	0.4±0.51 (0.0)	0.4±0.51 (0.0)	0.34	0.44±0.78 (0.0)	0.61±0.77 (0.0)	0.46±0.63 (0.0)	0.81±1.16 (0.0)	0.74
%AE R/CM´´	-	0.11±0.32 (0.0)	0.1±0.31 (0.0)	0.1±0.31 (0.0)	0.46	0.05±0.23 (0.0)	-	0.03±0.18 (0.0)	0.18±0.40 (0.0)	0.03*

ACsT= Aberraciones cromosómicas totales, AE= Aberraciones estructurales, B/CM´= Brechas cromatídicas; R/CM´= Rompimientos cromatídicos; B/CM´´= Brechas cromosómicas; R/CM´´= Rompimientos cromosómicos. En () se muestran los valores medios, con sus respectivas medias y desviaciones estándar. ** Prueba estadística Kruskal-Wallis. * Datos significativos.

En la siguiente tabla se observan diferencias estacionales de las ACs, de acuerdo a sus hábitos de vida, demostrando que existe un mayor número en la época de invierno, que en la de verano.

Tabla 7. Diferencias estacionales en los porcentajes de aberraciones cromosómicas y su relación con hábitos de la población.

Habito	N	Invierno	Verano	p
Convive con fumadores	26	2.15±1.95	1.11±1.24	0.01*
No fumadores	52	2.19±1.63	1.80±1.46	0.10
Consume alcohol	53	1.94±1.47	1.45±1.48	0.05*
No consume alcohol	26	2.73±2.10	1.84±1.28	0.03*
Consume vino tinto	20	2.2±1.36	1.65±1.84	0.16
No consume vino tinto	58	2.17±1.85	1.55±1.27	0.01*
Consume vitaminas	56	2.07±1.52	1.41±1.33	0.01*
No consume vitaminas	22	2.45±2.19	2.00±1.60	0.19
Consume medicamentos	25	2.60±1.75	1.76±1.26	0.03*
No consume medicamentos	53	1.98±1.70	1.49±1.50	0.06

Prueba estadística Wilcoxon se compararon las medias en invierno vs las medias en verano. Se reportan valores medios con sus desviaciones estándar. (*)Datos significativos.

Se observa que los hábitos de la población están relacionados con la presencia de ACs, pero sólo cuatro de ellos mostraron significancia, como se observa en la tabla 8.

Tabla 8. Aberraciones cromosómicas y los hábitos de la población en invierno y verano. Diferencias estacionales en los porcentajes de aberraciones cromosómicas y su relación con hábitos de la población.

Habito	N	Invierno	P	N	Verano	P
Convive con fumadores	26	2.15±1.95	0.32	27	1.11±1.21	0.01*
No fumadores	53	2.22±1.63		64	1.85±1.59	
Con alcohol	53	1.94±1.47	0.08	56	1.48±1.50	0.07
Sin alcohol	26	2.73±2.10		35	1.88±1.54	
Con vino tinto	20	2.20±1.36	0.33	21	1.76±1.86	0.48
Sin vino tinto	59	2.20±1.85		70	1.60±1.41	
Con vitaminas	57	2.10±1.53	0.38	65	1.53±1.48	0.17
Sin vitaminas	22	2.45±2.19		26	1.88±1.63	
Con medicamento	26	2.65±1.74	0.04*	29	1.82±1.58	0.18
Sin medicamento	53	1.98±1.70		62	1.54±1.50	

Prueba estadística Mann-Whitney se compararon los consumidores vs los no consumidores de cada agente. (*)Datos significativos.

Al parecer el tipo de transporte no incide en el porcentaje de aberraciones cromosómicas como se puede observar en la tabla 9.

Tabla 9. Porcentaje de aberraciones cromosómicas y su relación con el transporte utilizado por la población analizada.

ESTACION	N	Autobús	N	Metrobús	N	Microbus	N	Automóvil	N	Metro	p
INVIERNO	45	2.11±1.82	45	2.11±1.82	46	2.08±1.81	25	2.20±1.82	38	2.23±1.70	0.97
VERANO	53	1.49±1.46	53	1.49±1.46	54	1.48±1.45	28	1.32±1.15	50	1.70±1.56	0.93

Prueba estadística Kruskal-Wallis, se compararon los valores medios de porcentaje de aberraciones cromosómicas de cada grupo en las dos estaciones del año.

La frecuencia genotípica mostró una mayoría en la variante de heterócigos, representada en la siguiente tabla 10.

Tabla 10. Frecuencia genotípica de habitantes de la ZMVM.

Genotipo	No. de individuos (113).	%
CYP 1B1 Leu₄₃₂Val		
Leu/Leu	50	44.0
Leu/Val	53	46.0
Val/Val	10	8.0

⇒ Leu/Leu variante homócigo silvestre.

⇒ Leu/Val variante heterócigo.

⇒ Val/Val, variante homócigo mutante.

El único grupo que mostró diferencias estacionales en el porcentaje de aberraciones cromosómicas fue el de los homócigos silvestres, como se observa en la tabla 11.

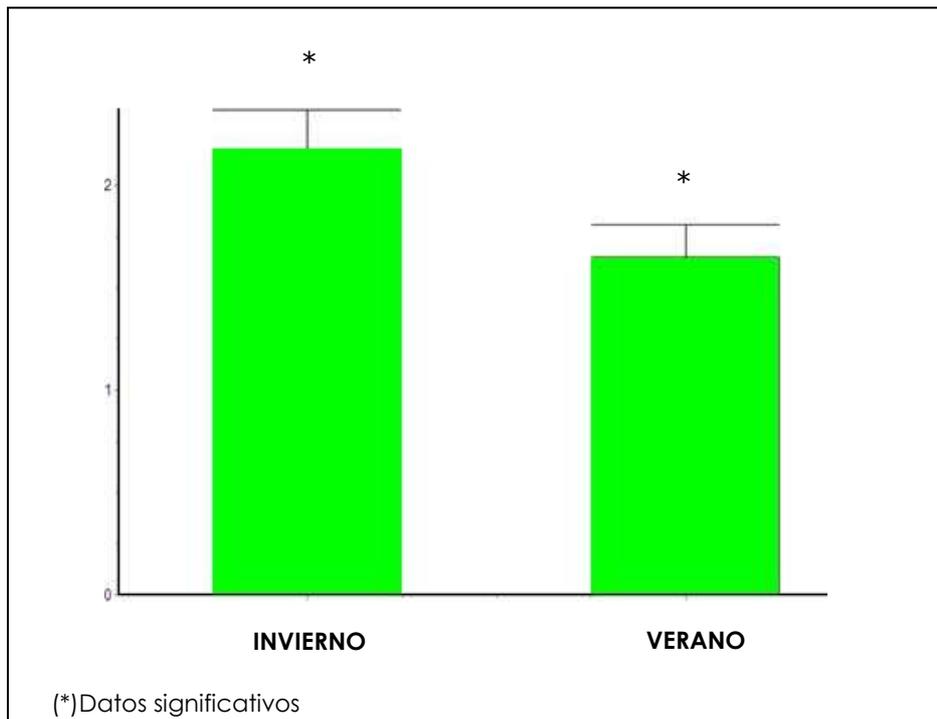
Tabla 11. Genotipo y porcentaje de aberraciones cromosómicas en invierno y verano.

	Genotipo	N	Invierno	Verano	p
Todas		92	2.17 ± 1.74	1.64±1.51	0.0125 *
CYP1B1	Leu/Leu	44	2.47±1.72	1.59±1.39	0.007*
	Leu/Val	40	1.95±1.81	1.63±1.46	0.39
	Val/Val	8	1.60±1.14	2.14±2.64	0.31

Prueba estadística Kruskal-Wallis. / (*) Datos significativos.

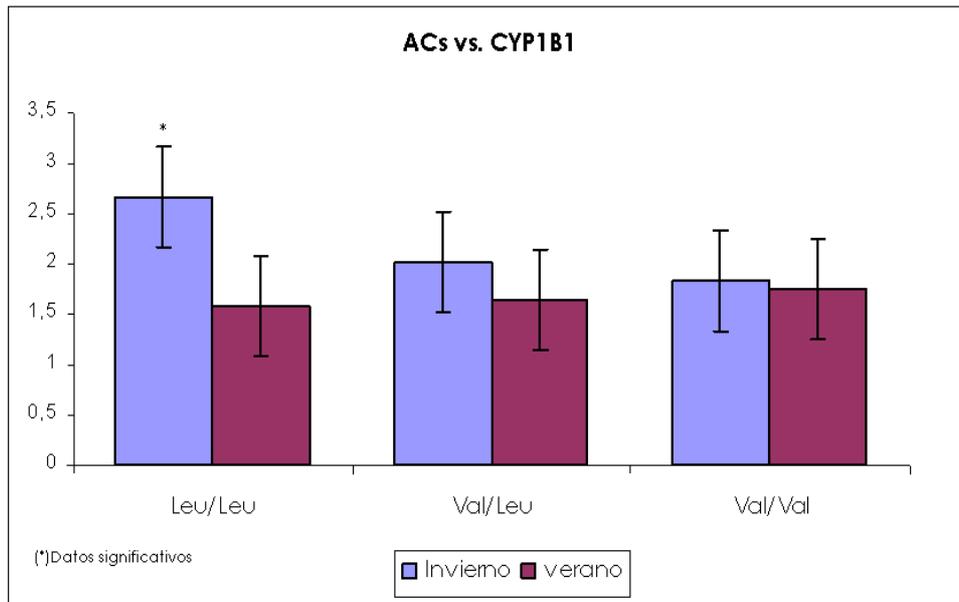
La relación de ACs que existe en invierno vs. verano fue significativamente más alta en la estación fría, como se observa en la Gráfica 1.

Gráfica 1. Relación de aberraciones cromosómicas en invierno y verano



Las diferencias estacionales en los porcentajes de ACs fueron estadísticamente significativas sólo en los homocigos silvestres, como se observa en la Gráfica 2

Gráfica 2. Muestra la relación del genotipo y las aberraciones cromosómicas en invierno y verano.



En la tabla 12, se muestra que no existe un efecto de las variantes alélicas con respecto al porcentaje de las aberraciones cromosómicas totales.

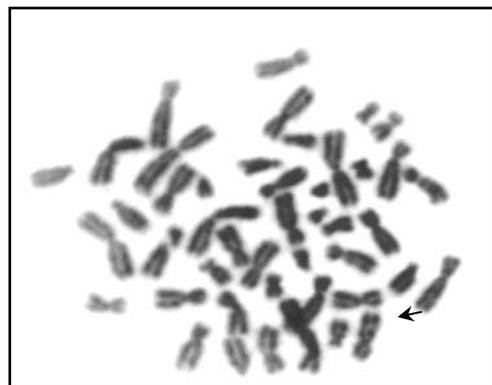
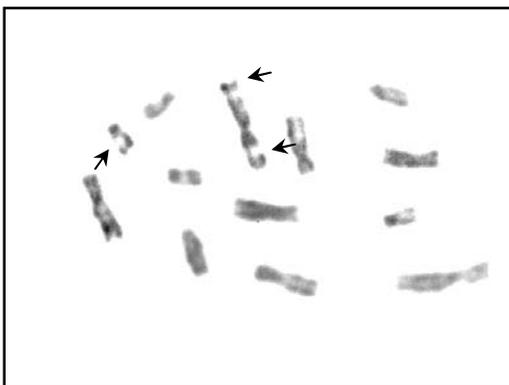
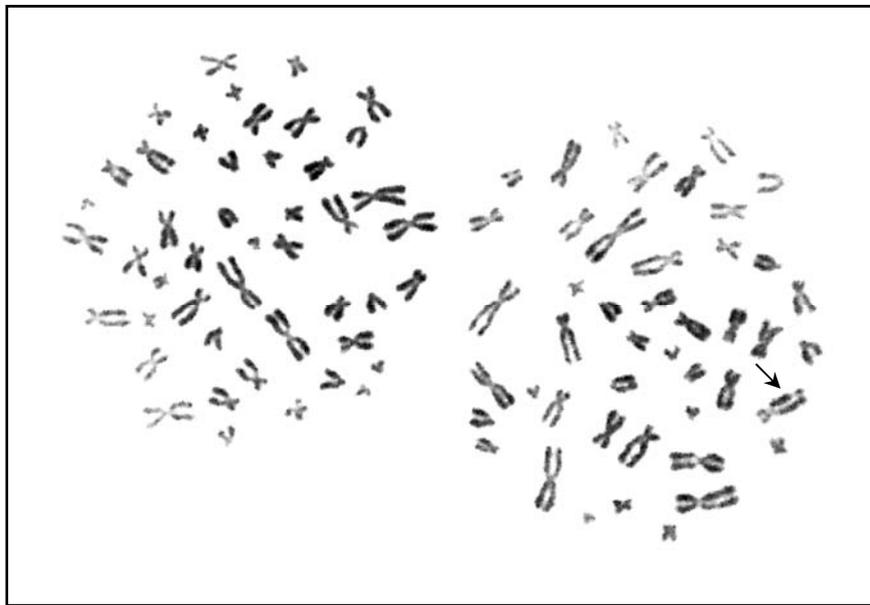
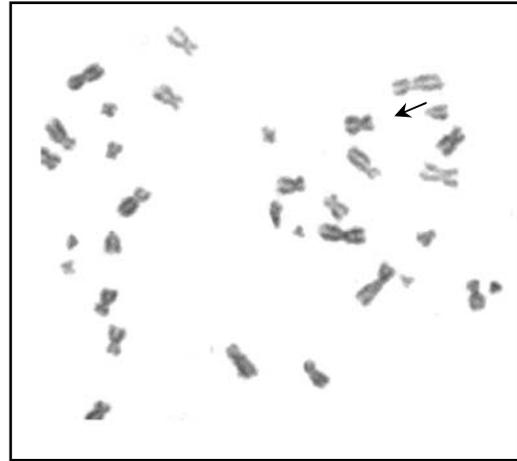
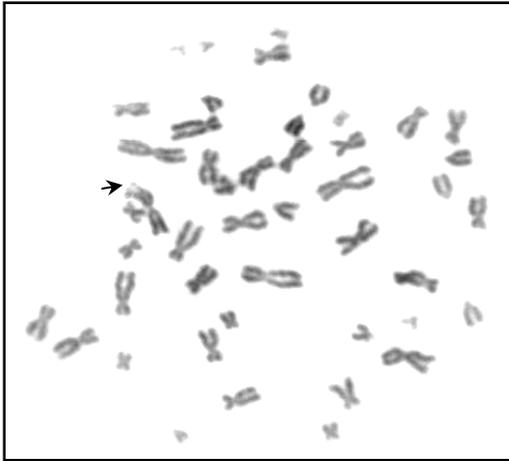
Tabla12. Efecto de las variantes alélicas del CYP 1B1 en el % ACsT

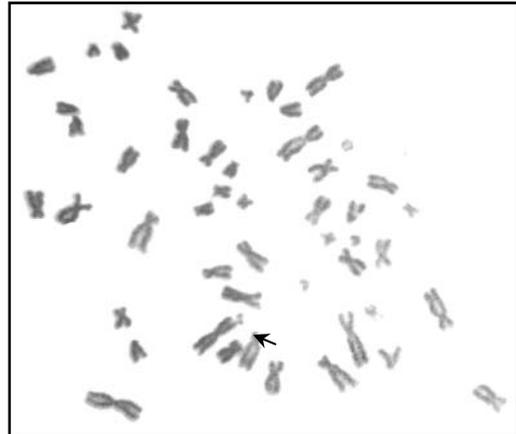
	Genotipo	N	Invierno	p	N	Verano	p
CYP1B1	Leu/Leu	38	2.47±1.72	0.28	44	1.59±1.39	0.91
	Val/Val	57	1.60±1.14		7	2.14±2.54	

ACsT= Aberraciones cromosómicas totales. Se comparó el homócigo silvestre con el homócigo mutante mediante una prueba de Mann-Whitney, no se observaron diferencias en los porcentajes de aberraciones cromosómicas entre homócigos silvestres y homócigos mutantes como se observa en la tabla 13.

Imágenes de aberraciones cromosómicas observadas en el microscopio
Olympus CH30

Brechas cromatídicas

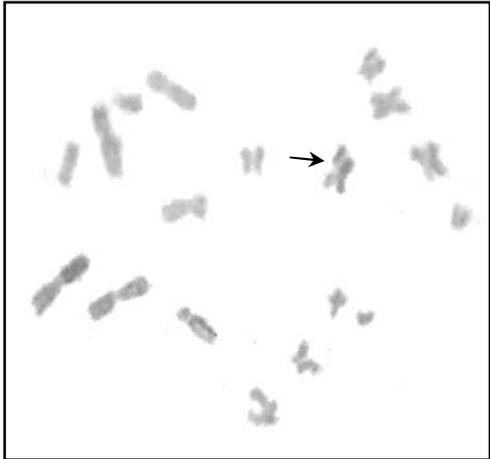
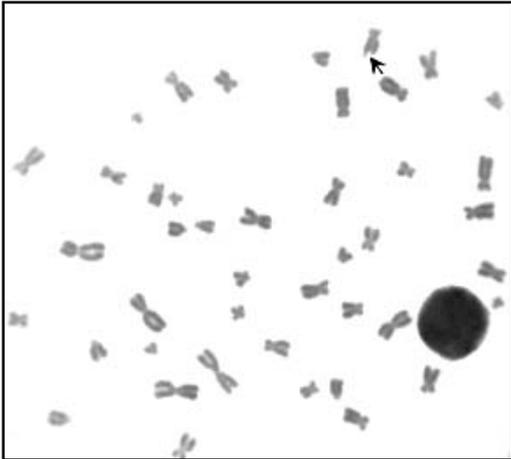
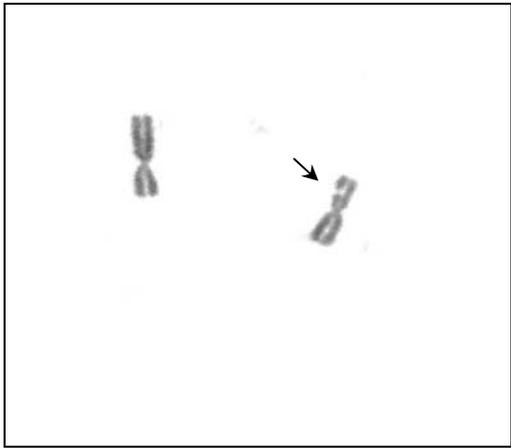
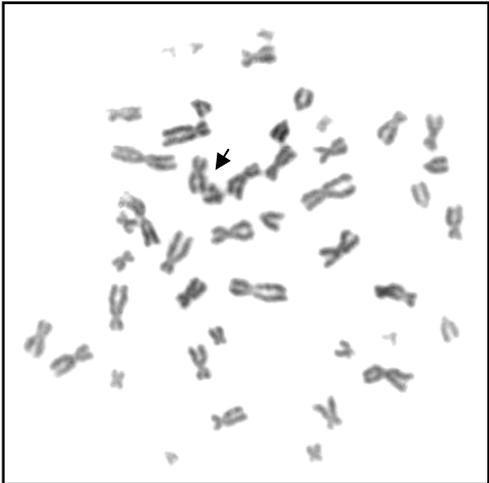


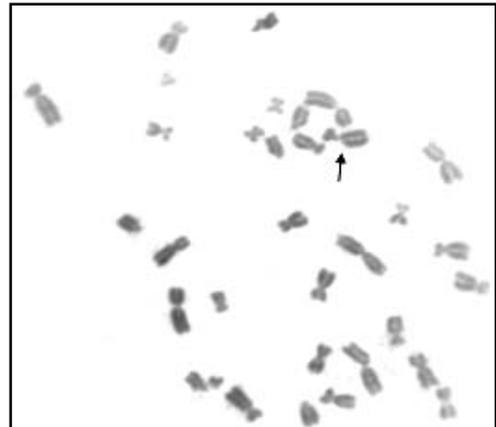
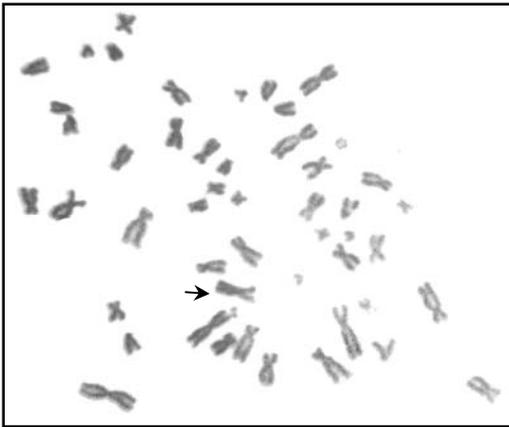
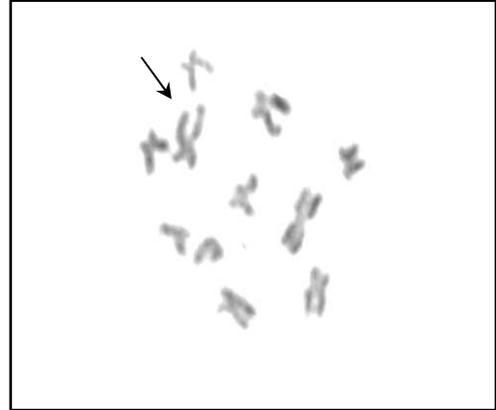
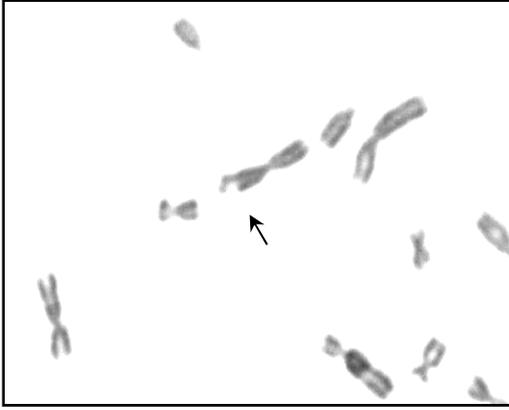


Brechas cromosómicas



Rompimientos cromatídicos





Discusión

La exposición crónica a la contaminación ambiental en muchos países, incluyendo México, ha generado en los linfocitos una inducción de daño cromosómico en las células (Hagmar, 2004).

El análisis de las ACs, demostró que los individuos expuestos a la contaminación ambiental de la ZMVM en la época de invierno presentaron mayores índices de brechas cromatídicas, brechas cromosómicas y rompimientos cromatídicos, que en verano (tabla 5). Esta diferencia se debió a que las emisiones de contaminantes son mayores durante los meses de invierno que durante el verano y además los contaminantes pasan mayor tiempo en la atmosfera como consecuencia de las inversiones térmicas que son más frecuentes en la época invernal.

La muestra poblacional analizada en su mayoría fue estudiantil (un 86%) y no fumadora, por lo que su exposición a contaminantes se debió principalmente al ambiente urbano, contrario a la mayoría de los reportes que se han hecho en poblaciones ocupacionalmente expuesta como lo reportado por Kamboj *et.al.* (2006) demostraron en policías de tránsito de la Ciudad de Amritsar, India, una alta frecuencia de ACs, por ser individuos expuestos 8 horas diarias a la contaminación ambiental. También Mielzynska *et.al.* (2006), evaluaron el impacto de los contaminantes ambientales, entre ellos los HAP y el plomo en niños en la Ciudad de Silesia, Polonia, ellos mencionan que los niños son más vulnerables que los adultos a los tóxicos ambientales, ya que son más susceptibles, en proporción a la masa corporal, debido a que son inherentes a factores de crecimiento. Knudsen, *et.al.* (1999) demostraron la influencia del efecto genotóxico de los contaminantes ambientales por medio de factores de susceptibilidad en conductores de autobuses y carteros no fumadores, en la Zona Metropolitana de Copenhague; sus resultados arrojaron que los conductores de autobuses presentaron una frecuencia significativamente mayor de ACs comparada con los carteros.

Las ACs de tipo cromatídico, cromosómico y brechas son aberraciones asociadas con la exposición crónica a mutágenos químicos y físicos, las brechas pueden ser esporádicas con una discontinuidad en una cromátide con una pequeña lesión y en el caso de rompimiento cromatídico y cromosómico, muestra una lesión desplazada del material genético (tabla 7). Se observó, en este estudio que las ACs aumentan de acuerdo a la edad, Knudsen, *et. al.*, (1999) opinan que la edad, el género y la reparación del DNA tienen un efecto de riesgo significativo en el incremento de aberraciones cromosómicas.

El fumar y la convivencia con fumadores induce ACs, Shuguang *et.al.*, (2008) mencionan que el habito de fumar provoca rompimientos cromosómicos y cromatídicos y reduce la capacidad de reparación del daño al DNA propiciando cáncer de pulmón, sin embargo en nuestro estudio no encontramos diferencia en los niveles de ACs en no fumadores con respecto de los individuos que manifestaron estar en contacto con fumadores.

Los individuos que consumían vino no mostraron diferencias en sus porcentajes de ACs con respecto a aquéllos que no consumen vino tinto; sin embargo, se ha reportado que el vino tinto tiene propiedades antioxidantes que ayudan a la protección de radiaciones que producen el daño al DNA (Arendt, 2005).

El consumo de alcohol en nuestra población se manifestó alto, así mismo, se observó una incidencia significativa de ACs en invierno. El consumo de alcohol en invierno induce mayoritariamente ACs, pero la ingesta de alcohol fue infrecuente y poco cuantitativa, el efecto independiente de alcohol en la muestra pudo no ser asertivo (tabla 9).

Kamboj, *et. al.*, (2006) opinan que el consumo de alcohol, puede tener un daño de efecto sinérgico a nivel cromosómico, siendo la causa la contaminación ambiental; debido a estudios previos con el etanol, se menciona que induce un incremento activo o fracción móvil del plomo en el cuerpo, logrando exacerbar los efectos genotóxicos del plomo. Además el

consumo de alcohol, la edad avanzada y la contaminación, contribuyen al incremento de aberraciones cromosómicas.

El estrés oxidante, juega un rol en la patogénesis de muchas enfermedades metabólicas crónicas y cáncer, existen diferentes teorías en donde se propone el daño crónico en el organismo, debido a factores químicos, ambientales y nutricionales, éstos inducen una sobreproducción de radicales libres en las mitocondrias y en el citosol.

No encontramos diferencias en los porcentajes de ACs entre los consumidores de vitaminas y los no consumidores, aunque se ha descrito ampliamente que las vitaminas juegan un rol muy importante y son consideradas "antioxidantes", la suplementación de vitaminas, reducen el daño en el cuerpo humano (Kokmaz, *et. al.*, 2009).

En nuestro estudio encontramos un efecto del consumo de medicamentos en los niveles de ACs durante el invierno, se observó que tomar medicamentos en invierno genera un mayor riesgo en la formación de ACs.

Por otro lado, el tipo del transporte utilizado, no incide en el porcentaje de ACs.

La correlación del marcador de efecto con la variante alélica, no mostró significancia. La formación de ACs es un evento multifactorial en el que seguramente están participando, tanto genes de metabolismo y ciclo celular, como de reparación, por lo que se requiere analizar otras variantes alélicas para determinar susceptibilidad genética por exposición a contaminantes ambientales.

A pesar de se intentó delimitar lo más posible la zona de muestreo para disminuir la variación, es claro que se encontraron ciertas fluctuaciones entre la población mexicana de la ZMVM.

Conclusiones

- ✓ La exposición a la contaminación atmosférica incrementa los efectos genotóxicos, hubo mayor daño genético durante los meses de invierno.
- ✓ Las ACs, son un buen marcador de efecto temprano en linfocitos de sangre periférica por exposición a la contaminación atmosférica en zonas urbanas.
- ✓ El daño cromosómico más abundante fueron los brechas de tipo cromatídico y cromosómico.
- ✓ El estilo de vida, como la alimentación, el transporte, el consumo de vitaminas, no mostró asociación con la presencia de ACs.
- ✓ La época de toma de muestra sí influyó en la frecuencia de daño cromosómico.
- ✓ El polimorfismo en el CYP1B1 Leu₄₃₂Val en nuestra muestra poblacional, no tiene impacto a nivel de biomarcador de efecto en linfocitos de sangre periférica como las ACs.

Literatura citada

- **Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Watson, J.** (2004). *Biología molecular de la célula*, 4ª edición Ediciones Omega, 1592 p.
- **Arendt B.M., Ellinger S., Kekic K., Geus L., Fimmers R., Spengler U., Müller W.U. y Goerlich R.** (2005). Single and repeated moderate consumption of native or dealcoholized red wine show different effects on antioxidant parameters in blood and DNA strand breaks in peripheral leukocytes in healthy volunteers: a randomized controlled trial. *Nutr J.* 2005; 4: 33.
- **Bautista M. J.D. y Gallegos M. MG.** (2005). Detección de mutagenicidad en agua de la planta lagunera potabilizadora de CD. Valles, S.L.P. mediante el ensayo de AMES. Tesis de licenciatura.
- **Daly, A., Steen, V., Fairbrother, K., Idle, J.** (1996). CYP2D6 Multiallelism. *Methods of enzymology.* 271:199-210.
- **Gonsebatt, B. M. E.** (1994). Marcadores biológicos de exposición a arsénico inorgánico. Tesis de Doctorado.
- **Gutierrez, B. J. y López de Cerain A.,** (2001) *Fundamentos e Ciencia Toxicológica.* Editores. Díaz de santos, 349p.
- **Hagmar, L. Brogger, A., Hansteen, I.I., Heim, S., Högstedt, B., Knudsen, L., Lambert, B., Linnainmaa, K., Mitelman, F., Nordenson, I., reuterwall, C., Salomaa, S., Skerfving, S. y Sorsa, M.** (1994). Cancer Risk in Humans Predicted by Increased Levels of Chromosomal Aberrations in Lymphocytes: Nordic Study Group on the Health Risk of Chromosome Damage. *Cancer Research* 54, 2919-2922.
- **Hukkannen, J. N** (2000). Xenobiotic-Metabolizing Cytochrome P450 Enzymes in Human Lung. *Acta Universitatis Ouluensis D Medica* 621.
- **Husgafvel-Pursiainen K.** (2004). Genotoxicity of environmental tobacco smoke: a review. *Mutation Research* 567, 427-445.
- **Kamboj, S. y Sambyal, V.** (2006). Increased chromosomal aberration in peripheral blood lymphocytes of traffic policemen of Amritsar city. *Int J Hum Genet*, 6(2): 125-131
- **Knudsen, L.E., Norppa H., Michael O. Gamborg, P.S., Henrik, N. Okels, H. Raffn, E., Järventaus, H. y Autrup, H.** (1999) Chromosomal Aberrations in

Humans Induced by Urban Air Pollution: Influence of DNA Repair and Polymorphisms of Glutathione S-Transferase M1 and N-Acetyltransferase 21. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, Vol. 8, 303–310, April.

- **Korkmaz, A., Reiter R.J., Topal T., Manchester L.C., Oter S. y Tan D.X.** (2009) Melatonin: An Established Antioxidant Worthy of Use in Clinical Trials. *Mol Med* 15 (1-2)43-50p.
- **Lee, H.S. y Yang M.** (2008) Applications of CYP-450 expression for biomonitoring in environmental health. *Environ Health Prev Med* (2008) 13:84–93.
- **Luque J. y Herráez, A.** (2002) *Illustrated Text of Molecular Biology and Genetic Engineering* 1º edition. Publicación de Elsevier Science.
- **Martínez, M. L.** (2001) Evaluación de riesgo carcinogénico de las sustancias. Parte 1. *Anuario Toxicología* 2001;1(1):9-16.
- **Mielzynska, D., Siwinska, E., Kapka, L., Szyfter, K., Knudsen, L. y Merlo F.D.** (2006) The influence of environmental exposure to complex mixtures including PAHs and lead on genotoxic effects in children living in Upper Silesia, Poland. *Mutagenesis* vol. 21 no. 5 pp. 295–304.
- **Molina, L. y Molina, J.** (2005). *La calidad del Aire en la Megaciudad de México, un enfoque integral*, Fondo de Cultura Económica. México, D.F.
- **N. Rothman, M.C. Poirier, M.E. Baser, J.A. Hansen, C. Gentile, E.D. Bowman, P.T. Strickland.** (1990) Formation of polycyclic aromatic hydrocarbon–DNAadducts in peripheral white blood cells during consumption of charcoal-broiled beef, *Carcinogenesis* 11, 1241–1243.
- **Pérez. M. R.** (2006) Frecuencia del polimorfismo CYP1A1*2C y GSTM1*0 en población mexicana y su posible asociación con la susceptibilidad a padecer cáncer pulmonar. Tesis de maestría.
- **Puerto, N. S.** (2001) Relación entre la heterogeneidad intragenómica y formación de Aberraciones Cromosómicas. Tesis Doctoral.
- **R.J. Albertini, D. Anderson, G.R. Douglas, L. Hagmar, K. Hemminki, F. Merlo, A.T. Natarajan, H. Norppa, D.E. Shuker, R.R. Tice, M.D. Waters, A. Aitio,** (2000). *IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of*

carcinogens in humans. International programme on chemical safety.,
Mutat. Res. 463, 111–172.

- **Rössner, P. Boffeta, M. Ceppi, S. Bonassi, Z. Smerhovsky, K. Landa, D. Juzova, R.J. Sram** (2005) Chromosomal aberrations in lymphocytes of healthy subjects and risk of cancer, *Environ. Health Perspect.* 113, 517–520.
- **Rooney D.E.** (2001). *Human Cytogenetics Constitutional Analysis* 3^o Edition. Editores Oxford university press. 282 p
- **Shaffer, L.G. y Lupski, J.R.** (2000), Molecular mechanisms for constitutional chromosomal rearrangements in human . *Annu. Rev. Genet.* 2.34: 297-329.
- **Schoket B. Papp, G., Levay, K., Mrackova, G., Kadlubar, F, F, and Vincze, I.** (2001). Impact of metabolic genotypes on levels of biomarkers of genotoxic exposure. *Mutat. Res.*, 482, 57-69.
- **Sharkey, F.H., Maher, E., Fitzpatrick, E-D.** (2005) Chromosome analysis: what and when to request. *Arch. Ds. Child.* 2005;90;1264-1269.
- **Shuguang, L. Stidley, C.A., Willink, R., Bernauer, A., Do, K., Picchi, M.A., Sheng, X., Frasco, M.A., Berg V.D., Gilliland, F.D., Zima, C., Crowell,y. Belinsky, S.A.** (2008). Double-strand break damage and associated DNA repair genes predispose smokers to gene methylation. *Cancer Res* 2008;68(8):3049–56.
- **SMAGDF**, Secretaría de Medio Ambiente del Gobierno del Distrito Federal (2008). Inventario de Emisiones de la Zona Metropolitana del Valle de México. *Sitio web* http://148.243.232.112/sma/links/download/archivos/inv_cont_toxicos/03inventario.pdf.
- **Thomas, M. D.** (2004) *Bioquímica, libro de texto con aplicaciones clínicas* 4^o edición. Editores Reverté. 1240p
- **Wenzlaff, A.S., Cote, M.L., Bock, C.H., Land, S.J., Santer, S.K., Schwartz, D.R. y A.G. Schwartz.** (2005) CYP 1A1 and CYP 1B1 polymorphisms and risk of lung cancer among never smokers: a population-based study. *Carcinogenesis*, 26, 2207-2212.
- **W.W. Au**, (1991) Monitoring human population for the effects of radiation and chemical exposures using cytogenetic techniques, in: G.

Wilkinson Editorial Occupational Medicine: State of the Art Reviews, Hanley and Belfus Inc. pp. 597–611.

- **Pagina web:** www.biología.arizona.edu.
- **Pagina Web:** www.cepis.org.pe/bvsci/E/fulltext/riesgo/index.html.
Curso de autoinstrucción, evaluación de riesgo asociado a contaminantes del aire.
- **Pagina web:** www.cuentame.inegi.org.mx
- **Pagina web:** www.inegi.org.mx
- **Pagina web:** www.who.int

Anexo

Cuestionario para evaluar efectos de exposición a HAPs en población mexicana.

Usted está participando en un estudio sobre daño genómico por exposición a contaminantes ambientales (HAPs). El estudio se llevará a cabo en el Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM. Los resultados de este estudio serán confidenciales y su único uso será con fines de investigación. Por favor escriba su respuesta en el espacio que se le asigna y no deje preguntas sin contestar. Agradecemos su participación.

Fecha _____ / _____ / _____
 Día Mes Año

Nombre _____
 Apellido Paterno Materno Nombre(s)

Correo electrónico _____

Fecha de nacimiento _____ Género: Masculino () Femenino ()
 Día/ Mes/ año

Ocupación: _____

Lugar de Nacimiento: _____
 Ciudad/ Estado/ País

¿De qué ciudad son originarios sus padres? Padre _____ Madre _____
 y sus abuelos? Paternos _____ Maternos _____

Su domicilio actual _____
 Calle Num. int/ext Colonia

Delegación CP Teléfono.

¿Cuánto tiempo lleva viviendo en este domicilio? _____

¿Ha vivido fuera de la ciudad de México por periodos mayores a tres meses? __
 ¿Cuánto tiempo permaneció fuera? _____

En los últimos seis meses ¿ha estado fuera de la ciudad de México por periodos mayores a una semana? Sí ____ No ____ ¿Por cuánto tiempo? _____

¿Qué tipo de estufa para cocinar tiene en su casa?

() de gas

() eléctrica

() otra (por favor descríbala) _____

¿Utiliza algún tipo de calefactor o chimenea para calentar su casa? _____

¿Cuenta en su casa con calentador de agua (boyler)? _____ ¿En dónde se encuentra? Dentro de la casa () En un lugar ventilado ()

En las últimas dos semanas se ha expuesto(a) a gasolinas, tiner, pinturas, aerosoles, humo de leña o carbón? No ____ Sí ____ ¿Cuál? _____

ANEXOS

¿Su casa se localiza a menos de dos kilómetros de alguna gasolinera? _____
¿A cuántas calles aproximadamente? _____

¿Su casa se localiza cerca de alguna fábrica (a menos de 5Km)? _____ ¿A cuántas
calles aproximadamente? _____

¿Ha fumado alguna vez en su vida? _____

¿Fuma actualmente? ____ si su respuesta es afirmativa, en promedio ¿cuántos cigarrillos al día? ()
menos de 5 () de 5 a 10 () más de diez.

¿Cuántas personas fuman en su casa? _____

¿Pasa mucho tiempo con algún fumador? No ____ Sí _____ ¿Cuánto? _____

¿Consumes bebidas alcohólicas? _____ si su respuesta es afirmativa ¿Con qué frecuencia?

- () una o dos veces al mes
- () una o dos veces por semana
- () tres o más veces por semana

¿Qué tipo de bebida ingiere?

- () cerveza
- () ron
- () vino tinto
- () Otro _____

¿Se ha expuesto en los últimos seis meses a?:

Herbicidas _____ Nombre _____ ¿Cuándo? _____

Fertilizantes _____ Nombre _____ ¿Cuándo? _____

Insecticidas _____ Nombre _____ ¿Cuándo? _____

¿Qué tipo de transporte utiliza para desplazarse a su destino?

- () automóvil particular.
- () Metro
- () Autobús, metrobús o microbús

¿Cuánto tiempo en promedio le toma transportarse diariamente a su destino (ida y
vuelta)? _____

¿Acostumbra realizar algún deporte o actividad al **aire libre**? _____ ¿De qué
tipo? _____ ¿Con qué frecuencia? () Todos los días

- () Cada tercer día
- () Cada semana
- () otro _____

¿Cuánto tiempo le toma hacer esta actividad? _____

Las siguientes preguntas tienen que ver con su salud.

En las últimas dos semanas ¿Cuántos días se quedó en casa por haber estado enfermo(a)?

- () 1-2 días
- () 3-4 días
- () 5 días o más
- () ninguno

¿Actualmente toma algún medicamento? ____ ¿Qué medicamento? _____

- ¿Desde hace cuánto tiempo lo toma? () una semana o menos
- () 2 a 3 semanas
 - () Un mes
 - () más de un mes

ANEXOS

¿Consumes algún tipo de vitaminas o suplementos alimenticios? _____
¿Cuáles? _____ ¿Con qué frecuencia? _____

Su estatura _____ Su peso _____

En los últimos seis meses ¿le han tomado radiografías? _____

Durante los últimos días ¿ha sentido irritación en ojos a causa de la contaminación? () Sí,
ardor () Sí, comezón () Sí, ojos rojos () No, ninguna

Durante los últimos días ¿ha presentado alguna alteración en nariz?

() Sí, irritación y ardor () Sí, fluidos () Sí, estornudos () Sí, sangrado () Sí, resequead

() sí, congestión () Ninguna

¿Alguno de sus padres, abuelos o hermanos ha padecido alguna de las siguientes enfermedades?

Cirrosis hepática _____ Cáncer _____ Leucemia _____ Bronquitis _____

**Gracias por su cooperación para llenar este cuestionario.
Realmente apreciamos el cuidado que tuvo
al responder las preguntas y el tiempo que nos brindó...!**